

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1966

N°

THÈSE

450

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

LE CALVEZ Henri, Yves

né le 24 Août 1933, à LEZARDRIEUX (Côtes-du-Nord)

Présentée et soutenue publiquement le :

ETUDE DES ALLO-ANTICORPS ANTI-LEUCO-PLAQUETTAIRES.
ESSAIS DE PRODUCTION D'IMMUN-SERUMS MONOSPECIFIQUES.

Président : Monsieur Jean BERNARD, Professeur

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1966

N°

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'État)

PAR

LE CALVEZ Henri, Yves

né le 24 Août 1933, à LEZARDRIEUX (Côtes-du-Nord)

Présentée et soutenue publiquement le :

ETUDE DES ALLO-ANTICORPS ANTI-LEUCO-PLAQUETTAIRES.

ESSAIS DE PRODUCTION D'IMMUN-SERUMS MONOSPECIFIQUES.

Président : Monsieur Jean BERNARD, Professeur



1/1/1968

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Alajouanine (T.), Aubin (A.), Bénard (H.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Halphen (E.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Richet (C.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.).

DOYEN Georges BROUET.
1^{er} ASSESSEUR } Daniel BARGETON
2^e ASSESSEUR } Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1^o CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

MM.

Anatomie	DELMAS (A.)
Anatomie et cytologie pathologiques	DELARUE (J.)
Anesthésiologie	BAUMANN (J.)
Bactériologie et virologie	TOURNIER (P.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
—	POLONOVSKI (J.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	MALMEJAC (J.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Biophysique médicale	BUGNARD (L.)
—	DOGNON (A.)
—	DJOURNO (A.)
Cancérologie médicale et sociale	DENOIX (P.)
Chimie pathologique	SCHAPIRA (G.)
Embryologie	TUCHMANN (H.)
Génétique fondamentale	LEJEUNE (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	COURY (Ch.)
Histologie	GIROUD (A.)
Hygiène et médecine préventive	BOYER (J.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	DEROBERT (L.)
Microbiologie (Bactériologie et virologie)	FASQUELLE (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.-C.)
Pathologie chirurgicale	LAURENCE (G.)
—	KUSS (R.)
—	VERNE (J.-M.)
Pathologie exotique	N...
Pathologie expérimentale et comparée	MERKLEN (F.-P.)
Pathologie médicale	LAROCHE (Cl.)
—	BRICAIRE (H.)
—	PÉQUIGNOT (H.)
Pathologie respiratoire	TURIAF (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	N...
Pharmacologie	CHEYMOL (J.)
—	LEVY (Mlle J.)
Physiologie	BARGETON (D.)
—	PARROT (J.)
Physiologie et pathologie obstétricales	LEPAGE (F.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)

Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	MM. CAUCHOIX (J.)
Thérapeutique	CONTE (M.)
Thérapeutique appliquée	LAMOTTE (M.)
b) Professeurs à titre personnel :	
Anatomie anthropologique	OLIVIER (G.)
Anatomie pathologique	NEZELOF (Ch.)
Bactériologie	BARBIER (P.)
Biochimie médicale	DESGREZ (P.)
Biologie médicale	DREYFUS (J.-Cl.)
Histologie	BOURLIÈRE (F.)
Parasitologie	COUJARD (R.)
Pathologie expérimentale	LARIVIÈRE (M.)
Physiologie	LOEPER (J.)
Physique médicale	RICHET (G.)
Radiologie médicale	DEJOURS (P.)
	ROUCAYROL (J.-Cl.)
	SCHERRER (J.)
	KELLERSHOHN (L.)
	GOUGEROT (L.)
	TUBIANA (M.)
	FISCHGOLD (H.)

2^e CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :		MM.
Clinique carcinologique chirurgicale (Necker)		REDON (H.)
Clinique cardiologique (Broussais)		SOULIÉ (P.)
— — (Boucicaut)		LENÈGRE (J.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon	LORTAT-JACOB (J.-L.)
	—	N...
	Cochin	LEGER (L.)
	Hôtel-Dieu	PATEL (J.)
	Saint-Antoine	GOSSET (J.)
Clinique chirurgicale orthopédique et traumatologique (Cochin)	Salpêtrière	SICARD (A.)
	Tenon	OLIVIER (Cl.)
— — — (Foch)		MERLE d'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédique (Enfants-Malades)		PADOVANI (P.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire (Broussais)		FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire (Laennec)		DUBOST (Ch.)
Clinique dermatologique (Saint-Louis)		MATHEY (J.)
Clinique endocrinologique (Pitié)		DUPERRAT (F.)
Clinique de Génétique médicale (Enfants-Malades)		DECOURT (J.)
Clinique gynécologique (Broca)		LAMY (M.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques (Saint-Louis)		HUGUIER (J.)
Clinique des maladies des enfants (Enfants-Malades)		DEGOS (R.)
Clinique des maladies infectieuses (Claude-Bernard)		TURPIN (R.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale (Sainte-Anne)		MOLLARET (P.)
Clinique des maladies métaboliques (Necker)		DELAY (J.)
Clinique des maladies du sang (Broussais)		HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du système nerveux (Salpêtrière)		BERNARD (J.)
Cliniques médicales	Bicêtre	CASTAIGNE (P.)
	Broussais	DEPARIS (M.)
	Cochin	MILLIEZ (P.)
	Hôtel-Dieu	BROUET (G.)
	Lariboisière	BARIÉTY (M.)
	Pitié	SÈZE (S. de)
	Saint-Antoine	DREYFUS (G.)
	Saint-Antoine	KOURILSKY (R.)
		BOUDIN (G.)

	MM.
Clinique d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	DEBRAY (Ch.)
Clinique médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	MARIE (J.)
Clinique médicale propédeutique (Broussais)	JUSTIN-BESANÇON (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition (Hôtel-Dieu)	DEROT (M.)
Clinique de neuro-chirurgie (Pitié)	DAVID (M.)
Clinique neurologique (Salpêtrière)	GARCIN (R.)
Cliniques obstétricales	Budelocque Saint-Antoine
Clinique obstétricale et gynécologique (Port-Royal)	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique (Hôtel-Dieu)	MERGER (R.)
— — (Cochin)	VARANGOT (J.)
Clinique oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	OFFRET (G.)
Clinique de pédiatrie	BREGEAT (P.)
Clinique de pédiatrie et de puériculture (Saint-Vincent-de-Paul)	AUBRY (M.)
Clinique de pneumo-phtisiologie (Laennec)	MOZZICONACCI (P.)
Clinique de neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	THIEFFRY (S.)
Clinique de rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	BERNARD (E.)
Clinique stomatologique (Salpêtrière)	MICHAUX (L.)
Clinique thérapeutique chirurgicale (Vaugirard)	COSTE (F.)
Clinique thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	DECHAUME (M.)
Clinique toxicologique	ROUX (M.)
Clinique traumatologique et orthopédique (R.-Poincaré)	LEMAIRE (A.)
Clinique urologique (Cochin)	GAULTIER (M.)
— — (Necker)	JUDET (R.)
Hygiène et clinique de la première enfance (Trousseau)	ABOULKER (P.)
Sémiologie médicale (A. Chantin)	COUVELAIRE (R.)
— — (Lariboisière)	LAPLANE (R.)
— — (Pitié)	DOMART (A.)
— — (Rothschild)	BOUVRAIN (Y.)
Sémiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	RAMBERT (P.)
	WOLFROMM (R.)
	POILLEUX (F.)

b) Professeurs à titre personnel :

Hématologie	ANDRÉ (R.)
Hydrologie et climatologie	BOUSSER (J.)
Maladies infectieuses	GIBERTON (A.)
	BASTIN (R.)
	AZERAD (E.)
	BOUR (H.)
	CABROL (Ch.)
	GROSSIORD (A.)
Médecine	LAMBLING (A.)
	LAUNAY (Cl.)
	PAYET (M.)
	PERRAULT (M.)
	SIGUIER (F.)
	WORMS (R.)
Neuro-chirurgie	LE BEAU (J.)
Neurologie	LHERMITTE F.
Neuro-psychiatrie	PICHOT (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	MADURO (R.)
Pédiatrie	OLONOVSKI (Cl.) ROYER (P.)
Pneumo-Phtisiologie	KREIS (B.) MEYER (A.)
Rhumatologie	DELBARRE (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.		MM.
Anatomie pathologique . . .	GOUYGOU (Ch.)	Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.)
Anesthésiologie	VOURC'H (G.)	Maladies infectieuses . . .	DUPONT (V.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)	Physique médicale	{ COURSAGET (J.) GREMY (F.)
Biochimie médicale	{ CARTIER (P.) GONNARD (P.)	Physiologie	GIRARD (Fr.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)	Stomatologie	CHAPUT (M ^{me} A.)
		Thérapeutique	CHASSAGNE (P.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie	HAUDUROY (P.) Pr. s. ch
Pathologie chirurgicale	RUDLER (J.) Pr. s. ch.

IV. — PROFESSEUR ASSOCIÉ

Statistique médicale et épidémiologique . .	SCHWARTZ (D.)
---	---------------

Secrétaire général de la Faculté	M. LENA (J.)
Conseillers administratifs	Mlle CHAINTREUIL (G.) M. FAYE (R.)
Conservateur en Chef de la Bibliothèque . .	{ M. le Docteur HAHN (A.)
Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine	
Conservateurs	{ Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.),
Bibliothécaires	{ Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROZOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Dr SCHILLER (J.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A mes Parents



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549021_0012

A Monsieur le Professeur Jean BERNARD,

Professeur de Clinique des Maladies du Sang
à l'Hôpital Saint-Louis.

qui a bien voulu nous faire l'honneur
de présider cette thèse.

En témoignage de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur J. DAUSSET

qui m'a inspiré le sujet de cette
thèse et m'a aidé dans sa rédaction.

Qu'il veuille bien accepter cette
dédicace , témoignage de notre
gratitude.

A Monsieur le Professeur J. COLOMBANI

A mes Maîtres de L'Institut Pasteur

qui m'ont enseignés l'immunologie générale :

Monsieur M. RAYNAUD

Mademoiselle A.M. STRAUB

A tous mes Maîtres dans les Hopitaux et à l'Institut Pasteur.

P L A N

I - Introduction

II - Historique

III - Généralités

(valeur antigénique et réponse immunitaire).

- a) techniques de mise en évidence d'anticorps anti leuco-plaquettaires
- b) constitution antigénique
 - Antigène d'espèce d'organe, alloantigène
 - Structure des antigènes de membrane.
- c) iso immuns sérums anti leuco-plaquettaire (apparition d'anticorps dans un sérum)
 - immunisation par différentes substances antigéniques
 - iso immunisation antileucocytes par polytransfusion, grossesses.

IV - Matériel et technique

- I) technique de leucoagglutination
- II) technique d'absorption
 - préparation des leucocytes
 - facteurs intervenant de l'absorption
- III) technique d'immunisation

V - Immunisation entre membre d'une même fratrie

- théorie : valeur de l'immunisation entre frères
- méthodologie
- :

VI - Essai d'absorption

- théorie : tableau carré
- méthodologie
- discussion et résultats

- 1) réactions données par un sérum pur
- 2) réactions données par un sérum contenant deux anticorps
- 3) réactions difficilement interprétables.

VII - Conclusion

I - INTRODUCTION

Les premières études immunologiques sur le tissu lymphoïde, les leucocytes et l'obtention d'immuns sérums leuco-agglutonnants et cytotoxiques chez l'animal sont déjà fort lointaines. Il a ainsi été découvert des hétéro-antigènes, des antigènes d'espèces, d'organes puis des iso-antigènes.

Mais la grande difficulté pour la progression dans la connaissance de ces antigènes réside dans le fait que les immuns sérums monospécifiques sont fort rares. Les iso-immuns sérums polyspécifiques proviennent de polytransfusés, de femmes multipares, ou de volontaires immunisés par des greffes de peau et des injections de leucocytes ou de plaquettes.

Le but de cette étude a été d'essayer d'obtenir des immuns sérums monospécifiques par immunisation entre frères soit par la technique d'absorption.

- Par immunisation, entre frères, à l'aide de greffe de peau suivie d'injection intradermique de leucocytes, soit par des injections intradermiques de leucocytes seuls. Cette immunisation entre frères doit faire apparaître des immuns sérums relativement spécifique du fait de la communauté antigénique entre membres d'une même fratrie.

- Par des études d'absorption qui ont pour but de permettre de dénombrer les anticorps contenus dans un iso immun sérum et si possible de découvrir ou d'obtenir des immuns sérums spécifiques.

Le principe guidant cette étude est la spécificité immunologique. Une cellule portant un certain nombre d'antigènes doit absorber spécifiquement les anticorps contenus dans un immun sérum. Si les conditions d'expérience sont satisfaisantes, température, pH, ionisation du milieu, ainsi que les rapports antigènes anticorps, tous les anticorps spécifiques des antigènes de la cellule doivent s'y fixer et eux seuls.

Il ne doit ainsi rester dans le sérum absorbé que des anticorps non spécifiques de cette cellule et elle ne doit plus être agglutinée par ce sérum. Trois tableaux d'absorptions croisées choisies permettent de montrer différents aspects du problème.

- 1) Un sérum probablement pur
- 2) Un sérum contenant au moins deux anticorps
- 3) Des cellules non agglutinées mais absorbant des anticorps.

II - HISTORIQUE

- En 1899, METCHNIKOFF immunisa des lapins avec des suspensions de ganglions de rate et obtint un sérum leuco-agglutinant et leucolytique vis à vis des cellules servant à l'immunisation.

- BESREDKA (8) l'année suivante en utilisant pour antigène des ganglions de cheval a observé que la spécificité n'était pas absolue car le sérum leucotoxique obtenu chez le cobaye se révélait actif chez le lapin.

- DELEZENNE (43) obtint des sérums leucolytiques en immunisant des lapins à l'aide d'injections sous-cutanées de ganglions de rate ou par injections de suspension de leucocytes obtenus par centrifugation.

- BUNTING (13) étudie les sérums préparés à partir de ganglions lymphatiques et de moelle osseuse de lapin, chez l'oiseau. Les sérums obtenus agglutinent et peuvent lyser in vitro des suspensions de cellules lymphoïdes et sont actifs in vivo sur les leucocytes du sang circulant ainsi que sur le tissu amygdalien.

- CHRISTIAN et LEEN (1905) ont étudiés la diminution de la mobilité leucocytaire sous l'influence de leucotoxines et l'ont considérée comme un indice de cytotoxicité. Ils ont remarqué que les sérums préparés par immunisation d'animaux à l'aide de suspensions de foie, de rein et de coeur possédaient aussi des leucotoxines. (18)

- En 1912 LESCHKE (51) a comparé l'activité agglutinante de certains hétéro immuns sérums leucolytiques et a mis en évidence dans les leucocytes un antigène spécifique d'espèce.

- MENNE (1922) (53) ROSENTAL, FALKENTEN et SAKAI en 1934 mettent en évidence des antigènes indépendants des érythrocytes et des plaquettes.

- LINDSTRON en 1926 (52) a obtenu des sérums antileucocytes de mouton et des sérums anti-leucocytes de cobaye et a tenté de traiter des malades atteints de leucémie myéloïde chronique. Il a ainsi observé que le sérum anti-polynucléaire pouvait produire une leucopénie très importante mais transitoire.

- STEINBERG et MARTIN en 1944 (73) confirment que l'on peut évaluer le titre leuco-agglutinant d'un sérum obtenu par immunisation de lapin à l'aide de leucocytes humains. Et ne peuvent mettre en évidence de différence antigénique sur les leucocytes normaux et les leucocytes leucémiques.

- PAGES, MAURIN, DELAUNAY en 1947 ont montré des phénomènes de choc chez l'animal inoculé par voie intraveineuse. Ce choc est imputable à des réactions anaphylactoïdes qui résultent de l'interaction entre anticorps apportés par le sérum anti-leucocytaire injecté et des antigènes correspondants. Ces antigènes sont représentés par l'antigène FORSSMANN, les antigènes propres aux leucocytes et probablement par des antigènes communs aux leucocytes et aux autres cellules de l'organisme.

- NUNGESTER, GORDON en 1950 ont comparé l'agglutination de globules rouges et de leucocytes par des anti-sérums de virus gruppé, de polysides pneumococciques et d'extraits végétaux et ont conclu à la présence d'antigènes communs à la surface des globules rouges et des globules blancs de cobayes. Mais l'intérêt de cette observation réside d'autre part dans le fait qu'il est fort probable qu'un sérum soit leuco-agglutinant pour des raisons de pathologies infectieuses. C'est à dire qu'un anticorps apparu contre un antigène viral ou bactérien au cours d'une infection peut agglutiner une variété leucocytaire ayant un antigène commun avec cet agent infectieux. Il a de plus été remarqué à cette occasion que la trypsine augmente l'agglutinabilité de ces deux types de cellules (leucocyte et hématie) en présence d'anti-sérum.

- WICHELS et LAMPE (78) ont annoncé la présence dans les leucocytes de l'antigène A spécifique des groupes sanguins : les leucocytes de deux malades atteints de leucémie myéloïde chronique étaient agglutinés par l'agglutinine anti A, l'anti-sérum après épuisement par des érythrocytes A perdait la faculté d'agglutiner des leucocytes de leucémiques. On a pu par la suite confirmer l'ex-

istence dans les leucocytes des antigènes spécifiques des groupes sanguins A et B.

- En 1952 J. DAUSSET (40) (41) a révélé l'existence dans le sérum de malade atteint d'agranulocytose chronique de leuco-agglutinines actives à 37°. L'année suivante il a trouvé une leuco-agglutinine chez les malades ayant reçus de nombreuses transfusions de sang. DAUSSET et coll. (27) ont émis l'hypothèse que ces iso-agglutinines anti-leucocytaires étaient induites par les transfusions.

- En 1954, MIESCHER et FAUCONNET (55) ont décelé chez un polytransfusé la présence d'une leuco-agglutinine qui réagissait avec les leucocytes du premier donneur ainsi qu'avec 30 % des échantillons de leucocytes examinés. L'agglutinine pouvait être absorbée par ces seuls leucocytes et non avec les 70% restant. Ces auteurs n'ont pu mettre en évidence ni agglutination, ni absorption de l'agglutinine. Ceci était une preuve qu'il s'agissait d'une iso leuco-agglutinine spécifique de groupe. Il n'y avait en plus aucune corrélation entre cette agglutinine et celle des groupes sanguins.

- DAUSSET (27) observe chez des malades qui en début de transfusions ne possédaient pas d'agglutinines anti-leucocytaires dans leur sérum et chez qui l'épreuve de leuco-agglutination s'est révélée positive après de nombreuses transfusions. Il a été constaté à ce sujet que les sérums de certains malades qui au début ne réagissaient qu'avec un petit nombre d'échantillons de leucocytes se montraient actifs sur un pourcentage plus élevé de leucocytes après de nombreuses transfusions. Ceci a également été mis en évidence par ANDRE R., DREYFUS B., SALMON C. en 1956 puis par BRITTINGHAM, KILLMAN et par R. PAYNE en 1957.

- En 1958 R. PAYNE (60) et van ROOD (64) ont montré que la formation d'anticorps anti-leucocytaires peut être stimulée par des grossesses.

A cette époque on a montré également qu'il existait chez l'homme des groupes leucocytaires définissables sérologiquement. (27)

Le premier antigène leuco-plaquettaire a été défini en 1958 (27) par l'étude de 7 sérums réagissant presque identiquement sur les leucocytes d'environ 60 % des individus testés. Par ailleurs, ils n'agglutinaient pas les leucocytes des 7 malades qui avaient fabriqué les anticorps. Ces malades et les individus dont les leucocytes n'étaient pas agglutinés par ces sérums ont été supposés être dépourvus d'un antigène commun, dénommé Mac. Une preuve supplémen-

taire de son existence a été fournie par l'apparition d'un anticorps de même spécificité au cours de l'immunisation par des transfusions de sang provenant d'un seul individu et contenant l'antigène Mac (87). Sa présence sur les plaquettes a été démontré par absorption (37) et par thrombo-agglutination (27). De nombreux exemples d'anti-Mac ont par la suite été retrouvés soit dans les sérums de femmes multipares (22) soit dans le sérum de volontaires immunisés, en particulier des injections intra-dermiques de plaquettes (33). Le même antigène a été décrit indépendamment par plusieurs auteurs (cf plus loin).

Deux autres antigènes leuco-plaquettaires formant apparemment un système à deux allèles ont été en 1963 provisoirement dénommé XaXb. L'importance de l'un d'eux pour l'histocompatibilité a été établi (23). Trois autres antigènes, dénommés provisoirement YaYbYc ont ensuite été définis (35). Par des échanges de sérums les antigènes Xa et Xb ont rapidement pu être identifiés aux antigènes 4a4b et les antigènes Y^aY^b aux antigènes 6^b et 6^c de Van ROOD (63) (l'antigène 6^c est actuellement dénommé 7^c).

Mais une image plus générale des relations entre les différents antigènes leuco-plaquettaires a pu être obtenue lorsque les leucocytes de 133 individus non-apparentés, de la population française ont été testés systématiquement à l'aide d'un grand nombre de sérums en utilisant deux techniques : la leuco-agglutination et la lymphocytotoxicité. Ce travail exécuté par DAUSSET J. avec P. IVANYI et D. IVANYI (22) a fait apparaître des sérums réagissant d'une façon très similaire. Il a été admis que chacun de ces groupes de sérums reconnaissent un caractère commun, c'est-à-dire un antigène (ou une association très fréquente de plusieurs déterminants antigéniques). A partir de cette hypothèse 10 antigènes ont ainsi été définis (parmi lesquels se trouvaient la plupart des antigènes précédemment décrits (voir les synonymes sur le tableau A).

La figure 1 illustre la répartition de ces différents antigènes dans la population française.

Il est clair qu'il existe des paires d'antigènes plus fréquemment associés chez un même individu que ne le voudrait le hasard (P 0,001). Ce sont les corrélations positives 1-2, 2-3, 3-4, 3-5, 5-6 d'une part et 7-8, 7-9 et 9-10 d'autre part. Celles ci sont parfois tellement étroites qu'elles apparaissent, tout au moins dans le petit échantillon de la population étudié, comme des "inclusions", c'est-à-dire que l'antigène de fréquence la plus faible n'est

LES GROUPES LEUCO-PLAQUETTAIRES

% fréquence dans la population	DAUSSET	R. PAYNE	VAN ROOD	SHULMAN	TERASAKI
46 - 60 29 35 79	1(Lac) 2	LA ₂ LA ₁ LA ₃ . LA ₄	8 ^a	PIGrLy ^{B1}	2 1
62 - 71 39 19 23 34 65 - 86	3(X ^a) 4 5 6 7(X ^b)	 4 ^c 	4 ^a 4 ^b		3 7
88 - 91 52 - 57	(Y ^a) 9(Y ^b)		6 ^a 6 ^b		
26 - 30 76 31 - 34 32	 10(Y ^c)		7 ^a 7 ^b 7 ^c (6 ^c) 7 ^d ..	PIGrLy ^{C1}	
55 97		5 ^a 5 ^b			
65		9 ^a			

*LA₄: Allèle postulé

**Possible identité avec l'antigène 8 de Dausset

monocentré que lorsque l'antigène de plus grande fréquence est présent. Ainsi 1 (Mac) est inclus dans 2; 4 et 5 sont inclus dans 3; 8 est inclus dans 7; 10 est inclus dans 9.

Il est clair également qu'il existe des paires d'antigènes plus fréquemment dissociés chez un même individu que ne le voudrait le hasard ($p = 0.05^*$). Ce sont les corrélations négatives qui témoignent de la distribution contractée des antigènes 1-7, 2-7, 3-8, 3-7, 3-10, 5-7, 6-9, et 4-6.

Ainsi étudiant un nombre limité d'individus non-appariés avec un nombre limité de sérums contenant souvent des mélanges d'anticorps on constate que ces différents antigènes s'organisent en deux séries d'antigènes positivement associés (première série : 1,2,3,4,5,6; deuxième série : 7,8,9,10) et qu'entre ces deux séries il n'existe que des corrélations négatives. (Il y a néanmoins une exception : une liaison négative 4-6).

Cette ordonnance est structurée sur 3 antigènes :

- 1) L'antigène 1 (Mac) qui est "contenu" dans l'antigène 2.
- 2) L'antigène 3 qui "contient" les antigènes 4,5 et partiellement 6.
- 3) L'antigène 7 qui "contient" l'antigène 8 et pratiquement les antigènes 9 et 10. Les antigènes 3 et 7 présentent dans la population une distribution contrastée, c'est-à-dire ont tendance à se comporter comme des allèles antithétiques.

Il est peu vraisemblable, que de tels rapports entre ces antigènes soient observés sans qu'il existe pour la plupart des liens étroits entre les gènes correspondants. Cette constatation a conduit DAUSSET et IVANYI (22) à avancer l'hypothèse que la plupart sinon tous les sérums employés reconnaissaient des antigènes appartenant à un même système.

Des études familiales entreprises avec MOULLEC, BERROCHE et BENOIT (36) ont montré que ces antigènes étaient transmis comme des caractères mendéliens autosomiaux. Sur les 18 familles étudiées jusqu'à présent il n'a été observé aucune ségrégation indépendante entre ces antigènes mais par contre de nombreuses ségrégations indépendantes entre eux et les systèmes de groupes érythrocytaires

1_ Travail fait avec l'aide de la bourse CA 5573 du National Institut of Health à l'Institut de Recherches sur les Maladies du Sang (Hopital Saint-Louis - Paris) Directeur : Professeur Jean BERNARD.

et sériques. Ce point sera repris plus loin à propos de la discussion sur l'existence d'un ou de deux systèmes principaux.

De plus les antigènes leuco-plaquettaires semblent être eux-mêmes complexes. Ils présentent à ce propos des analogies avec l'antigène D du système érythrocytaire Rh. On sait que celui-ci a été montré être constitué par une mosaïque de facteurs antigéniques Rh^A , Rh^B , Rh^C , Rh^D variant selon les populations étudiées*. IVANYI et DAUSSET (48) ont avancé l'hypothèse qu'une situation semblable était la règle pour les antigènes leuco-plaquettaires. Ils seraient tous des mosaïques de facteurs antigéniques très fréquemment associés dans une population donnée. C'est ainsi que chez la plupart des individus de la population française l'antigène 1(Mac) serait constitué d'un certain nombre de facteurs, dont quelques uns semblent manquer dans les échantillons très limités de population japonaise ou noire du Mali qu'ils ont testés.

Quoique ces informations soient encore nettement insuffisantes elles sont néanmoins suggestives. Si on y ajoute les résultats de pré-immunisation sélectives pour un des antigènes principaux, ϕ (Mac), 3 ou 7, suivies de greffes multiples les uns compatibles, les autres incompatibles pour cet antigène, expériences qui ont montré la possibilité dans 94% des cas de prédire l'ordre de rejet ($\frac{34}{-}$) %, est sans doute en droit d'avancer l'hypothèse que les antigènes étudiés sont des antigènes tissulaires d'histocompatibilité; c'est pourquoi DAUSSET a proposé d'appeler le système correspondant les systèmes Hu (histocompatibilité humaine).

*

* *

* Une probabilité p différente a été choisie selon le signe + ou - des coefficients de corrélation entre deux antigènes ($r = +$ ou $- \frac{Y}{X}$ quand N = Nombre d'individus testés). En effet : 1) la signification biologique de la corrélation négative est plus précise : elle marque un allélisme ou un pseudo-allélisme.
2) sa valeur maximale ne peut dépasser 0,39 pour N = 100. ()

* chez les noirs, le facteur antigénique Rh^A , Rh^B , et Rh^D , peut être absent
(15)

Mais d'autres équipes de chercheurs ont abordé le même sujet et il est important de montrer comment ces travaux s'articulent avec les leurs.

Il est remarquable que l'antigène 1 (Mac) a été retrouvé indépendamment par plusieurs équipes, ce qui prouve sa grande antigénicité. Il a été dénommé $\text{PIGrLy}^{\text{B1}}$ par SHULMAN et al (72), LA2 par PAYNE et al (61), 8^a par Van ROOD et al (62) et 2 par TERASAKI (74).

BODMER ET PAYNE (12) ont construit un système à 3 pris à 4 allèles autour de cet antigène, le système LA. Les antigènes LA1, LA2, LA3 sont définis sérologiquement, l'antigène LA4 est seulement postulé (tableau 1).

Van ROOD et al (63) ont apporté la première description de l'antagonisme entre les antigènes 4^a et 4^b (identiques ou voisins de nos antigènes 3 et 7). Puis Van ROOD et al (11) ont décrit d'autres systèmes à deux allèles : les systèmes 5^a5^b , 6^a6^b , puis plus récemment un système à 4 allèles : $7^a7^b7^c7^d$ (62) sans que n'aient été publiées les relations qui pouvaient exister entre les antigènes de ces différents systèmes. Cependant l'antigène 7^c (anciennement dénommé 6^c) avait été observé être "inclus" dans l'antigène 6^b .

Enfin, TERASAKI et al (74) qui ont introduit chez l'homme la lymphocytotoxicité ont décrit 6 antigènes dont trois correspondent à nos antigènes 1(Mac) 3 et 7 (tableau A).

Pour être complet signalons que BODMER et PAYNE (12) ont décrit deux antigènes, l'un 4^c fréquemment associé à 4^a , l'autre 4^d fréquemment associé à 4^b ; et que Van ROOD et al (62) ont décrit un antigène 9^a . SHULMAN et al (25) ont décrit un antigène PLG_r LY^{C1} .

*

* *

Lorsqu'en Août 1965, à la Conférence sur "Histocompatibility Testing" (6) DAUSSET et P. IVANYL ont montré pour la première fois des rapports existant

* 6^b est identique ou voisin à notre antigène 9; 7^c est identique ou voisin à notre antigène 10.

** L'appartenance des antigènes 5^a5^b et 9^a à ce système est probable mais non formellement démontrée.

entre les différents antigènes et proposé l'hypothèse que tous ou la plupart appartiennent à un même système, cette hypothèse a soulevé de nombreuses réserves. Cependant, à la VII^e Conférence Internationale de Transplantation, l'hypothèse que la plupart des antigènes formaient un système complexe autour des antigènes 4^a (3) et 4^b (7) était admise. Demeurait discuté le point de savoir si le système LA (Mac) devait ou non entrer dans ce même système ou former un système isolé.

L'accord est actuellement fait sur l'existence d'un système 4^a (3), 4^b (7), comportant les antigènes associés rassemblés à la partie B du tableau A*. Il est remarquable de constater à ce propos que les fréquences génétiques calculées par BODMER et al (12) sur leur propre matériel et sur un matériel limité de VAN ROOD et al (17) concordent bien avec les fréquences calculées chez J. DAUSSET.

L'indépendance du système LA par rapport à ce premier système repose sur l'étude de deux familles publiées par BODMER et al (19-22). La deuxième famille est seule convaincante montrant des recombinants entre les deux séries d'antigènes.

Cependant, un certain nombre d'arguments demeurent en faveur d'une relation génétique entre ces deux séries d'antigènes. Ces arguments sont développés ailleurs (32). Disons seulement ici que parmi les 91 familles étudiées par BERROCHE (7) pour l'antigène 1 (Mac) ont été sélectionnés les 10 familles qui pouvaient donner des informations à ce sujet (couple hétérozygote 1 (Mac) positif X homozygote 1 (Mac) négatif). Il n'a pas été trouvé de recombinant entre l'antigène 1 (Mac) et ceux de la série d'antigènes associés aux antigènes 4^a (3) et 4^b (7) alors que dans ce nombre limité de familles des recombinants ont été observés entre 1 (Mac) et les antigènes A, C, Kell, Fy^a et P, ainsi qu'avec l'antigène plaquettaire Ko^a . Mais il faut sans doute attendre des études familiales beaucoup plus nombreuses et des comparaisons entre laboratoires avant de conclure.

III - G E N E R A L I T E S

Il est indispensable avant de commencer l'étude de l'absorption de résumer les quelques certitudes et hypothèses que nous avons sur les antigènes leucocytaires et sur l'évolution quantitative et qualitative des anticorps apparus au cours d'une immunisation.

Il y a maintenant soixante ans que l'on a connaissance d'antigènes leucocytaires. Le conflit antigène anticorps a pu être étudié grâce à différentes techniques. Le nombre de ces techniques fait penser soit à l'imperfection de toutes, soit à la complexité et la multiplicité des anticorps et par suite à la diversité des conflits antigènes anticorps.

LES TECHNIQUES :

La mise en évidence d'antigènes leucocytaires peut être faite par la lyse des leucocytes en utilisant un sérum anti-leucocytaire en présence de complément (5), par l'agglutination (31) (30) (58), par la consommation de l'antiglobuline (29), la leuco précipitation faite selon la technique du Ring-test ou en milieu gélifié (66) la fixation du complément qui paraît donner des résultats semblables à l'agglutination (56).

Et d'autres tests de moins d'importance: l'inhibition de la bactériophagocytose, la leucopénie provoquée par l'injection de sérum anti aussi bien chez l'homme que chez l'animal (54), et les intradermo réactions faites avec des suspensions ou des lysats leucocytaires.

Des anticorps anti-leucocytaires ont été élaborés chez le lapin et ont servis à étudier par la technique de leuco-précipitation en gélose ou par l'immunoélectrophorèse, les différents antigènes des leucocytes humains (66).

Ainsi tout un groupe de technique dont fait partie l'agglutination utilisent comme substrat antigène le leucocyte entier non détruit.

D'autres tel que la lyse et l'inhibition des leucocytes vivants explorent peut-être la paroi de la cellule mais aussi des antigènes intracellulaires.

Et enfin celles qui utilisent comme substrat antigénique les produits obtenus après destruction de leucocytes comme la fixation du complément et la précipitation permettent l'étude des antigènes intra leucocytaires. (Les techniques de précipitation spécifiques en milieu gélifié ont pour inconvénient de ne mettre en évidence que les antigènes solubles).

CONSTITUTION ANTIGENIQUES DES LEUCOCYTES

Les travaux réalisés par précipitation en gel et par immuno-électrophorèse (66) ont permis de distinguer trois grands groupes d'antigènes leucocytaires.

- 1.- Les antigènes situés sur les membranes en général aussi bien à la surface qu'en profondeur des leucocytes, spécifiques de l'espèce et antigènes de groupe ;
- 2.- Dans le cytoplasme on peut obtenir des immuns sérums spécifiques à l'aide des fractions mitochondries riches en microsomes. Cependant, il est peu probable que la spécificité cellulaire du leucocyte se trouve dans le cytoplasme.
- 3.- L'antigénicité du D N A a elle aussi été prouvée, il ne s'agit pas d'antigènes spécifiques des leucocytes, mais présent dans la plupart des cellules nucléées.

Seuls nous intéressent ici les antigènes de membranes qui induisent les iso-anticorps.

Etude des antigènes de membrane.

Les techniques de leuco-agglutination et lympho-cytotoxicité ont permis de mettre en évidence sur des leucocytes d'antigènes propres ou communs aux érythrocytes, aux plaquettes ou encore communs à d'autres tissus de l'organisme.

Les antigènes de groupe communs aux leucocytes, aux plaquettes et aux érythrocytes (59) : la présence d'antigène A B O sur les leucocytes est en effet, confirmée par de nombreux travaux. Le désaccord persiste encore pour les antigènes du système Rhésus et les autres systèmes (4).

Les antigènes de groupe communs aux plaquettes et aux leucocytes : la plupart des antigènes semblent communs aux plaquettes, granulocytes et aux lymphocytes. C'est le cas par exemple des antigènes $\text{PlGrLy}^{\text{B1}}$ et $\text{PlGrLy}^{\text{C1}}$ décelé par fixation du complément (5). Tantôt mis en évidence en leuco-agglutination (65)

Des antigènes proprement leucocytaires ont également été découverts. Ainsi en 1954, ANDRE et Coll. (3) ont apporté la preuve d'un antigène actif électivement sur les lymphocytes. De même un antigène limité aux lymphocytes (LyD^1) dont la fréquence, dans la population américaine est de 36% a été signalé par SHULMAN (69).

La localisation de ces antigènes leucocytaires ou plaquettaires non présent sur les érythrocytes ne préjuge pas de la présence de ces mêmes antigènes sur d'autres tissus. Par absorption sur collules de rate, de rein, de placenta et de nodule lymphatique humain, des antigènes ont été mis en évidence entre ces différents tissus et les leucocytes (16).

Des expériences de greffes ont prouvé l'existence des antigènes communs à la peau et aux leucocytes (28) (22) (23) (25).

Groupes leucocytaires

En utilisant des sérums de polytransfusés ou de Multipares le groupage leucocytaire a été réalisé. Par les techniques de leuco-agglutination et de cytotoxicité, fixation du C sur plaquette, R.PAYNE (60), van ROOD (65), SHULMAN (71), TERASAKI (74) et J.DAUSSET ont découverts des antigènes de groupe

Ces groupes leucocytaires et plaquettaires commencent à être mieux connus et peuvent être classés ainsi :

A. Les antigènes apparemment spécifiques pour une lignée cellulaire qui peuvent être assimilés à des antigènes d'organe :

Les systèmes plaquettaires $Ko^a Ko^b$, $Zw^a (Pl^{A1}) Zw^{\bar{o}}$, Pl^{E1} , Pl^{E2} , ainsi que les antigènes Pl^{G1} et Duzo ont été décrits. L'importance pratique de l'antigène $Zw^a (Pl^{A1})$ doit être soulignée puisqu'il paraît responsable du plus grand nombre des purpuras post-transfusionnels et des purpuras néo-nataux par allo-immunisation foeto-maternelle. Il est souvent sous une forme incomplète ou bloquant le complément.

- L'antigène lymphocytaire Ly^{D1} .

- L'antigène granulocytaire neutrophile Dr, probablement responsable ainsi que d'autres anti-neutrophiles des neutropénies néo-natales par allo-immunisation foeto-maternelle.

B. Les antigènes présents à la fois sur les leucocytes de toutes lignées et les plaquettes ainsi que les organes jusqu'ici testés et qui peuvent être assimilés à des antigènes tissulaires d'histocompatibilité :

Etudiant 10 antigènes DAUSSET et IVANYI ont établi leurs rapports dans la population française. (Les synonymes sont donnés entre parenthèses). Ce sont les antigènes 1 (Mac, $PlGrLy^{B1}$, LA 2, 8^a), 2, 3 (4^a , X^2), 4, 5, 6, 7 (4^b , X^b), 8, 9 (6^b), 10 (7^c).

Ces antigènes ainsi que ceux décrits par les autres auteurs (PAYNE, VAN ROOD, SHULMAN, TERASAKI) se regroupent :

- les uns autour de l'antigène 1 (Mac) qui est identique ou similaire aux antigènes $PlGrLy^{B1}$, LA 2, 8^a , 2 de TERASAKI. Un système à quatre allèles a été décrit : le système LA^1 , LA^2 , LA^3 , LA^4 .

- les autres, autour des antigènes pratiquement antithétiques $4^a(X^a)$ $4^b(X^b)$: A $4^a(X^a)$ ont fréquemment associé les antigènes 4, 5, 6 et 4^c , 7^b , à $4^b(X^b)$ ont fréquemment associé les antigènes 8, 9 (6^b), 10 (7^c), 4^d , $PlGrLy^{C1}$, 7^a , 7^d .

D'autres antigènes demandent encore à être classés. Ce sont les antigènes 5^a 5^b , 9^a .

Structures des antigènes

On ne connaît pas ou peu de choses sur la structure chimique des antigènes leucocytaires, ceci n'a que peu d'importance quant à l'évolution des recherches sur leur détermination. Cependant, l'apparition et la durée d'existence des iso-anticorps dans les sérums en dépend. Le nombre d'antigènes différents porté par une cellule n'est pas non plus connu, ni le nombre de sites identiques pour chacun de ces antigènes. La connaissance des globules rouges nous laisse imaginer une réelle complexité.

Ce nombre d'antigènes différents à la surface d'un leucocyte est d'ailleurs variable suivant que l'on considère une variété leucocytaire par rapport à un individu ou un autre dans la même espèce. Car une substance chimique peut être reconnue antigénique par un individu et non par un autre bien que ni l'un, ni l'autre ne possède cette structure. Cette différence est probablement due à des catabolismes différents selon les individus. Soit encore, parce que chez certains il y a une structure antigénique voisine ou parce que la capacité de réponse immunologique n'est pas la même pour tous. Ceci donne à un antigène qui est une structure chimique précise des apparences de fluctuation qui ne sont pas dues à l'antigène qui lui-même diffère de l'autre chimiquement mais à l'individu stimulé.

Si un antigène d'une variété leucocytaire est une structure chimique stable, il semble que des antigènes de cellules de variété différentes puissent être voisins mais non totalement identiques. On peut imaginer que chaque antigène est composé de plusieurs facteurs antigéniques. Un certain nombre seulement sont communs et d'autres différents ce qui expliquerait des réactions croisées.

Ainsi un antigène A peut être composé de facteurs 1-2-3

B	"	"	"	2-3
C	"	"	"	3-4

Ce qui mène à penser que nous ne considérons pas seul site antigénique quand nous parlons d'un antigène mais plutôt d'une somme de sites très voisins. Comme si sur une chaîne de peptides de la paroi se trouvaient branchés des sucres dépendants évidemment de la structure génétique mais dont certains manqueraient ou seraient différents, conséquence d'une mutation ou d'une délétion pour certaines variétés leucocytaires.

En somme l'on connaît des antigènes leucocytaires et des communautés antigéniques avec différents tissus. Les méthodes employées, qui utilisent un grand nombre d'immuns sérums anti-leucocytaires mais multispécifiques, permettent de faire des groupes antigéniques dans la population. Mais la caractérisation des antigènes attend toujours les immuns sérums spécifiques.

LES ISO - IMMUNS SERUMS ANTI - LEUCOCYTAIRES

Généralités

Il semble nécessaire d'avoir présent à l'esprit les variations quantitatives et qualitatives possibles des anticorps stimulés par des antigènes polysaccharidiques ou protéiques ainsi que d'autres facteurs qui jouent également un rôle :

- La voie d'introduction
- Le nombre d'immunisations ou d'injections
- La quantité d'antigènes
- L'âge du sujet
- La capacité de réponse immunologique
- La vitesse d'élimination de cet antigène.

Apparition des anticorps dans un sérum

- a)- Si la substance antigénique est protéique à la suite d'une première stimulation chez le lapin, les anticorps apparaissent après une latence d'une semaine, pour atteindre un maximum vers le 10ème ou 15ème jour, puis la chute du taux est rapide et il n'est plus décelable 20 à 30 jours après l'injection (courbe N°1-tableau B).

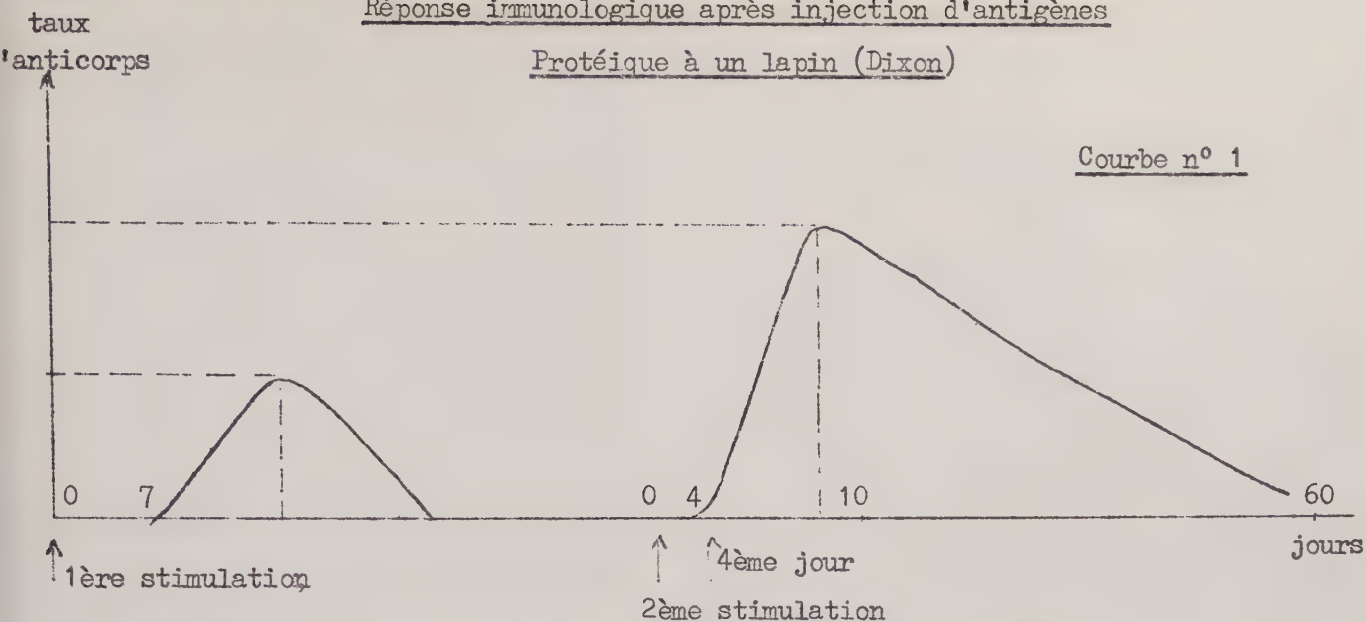
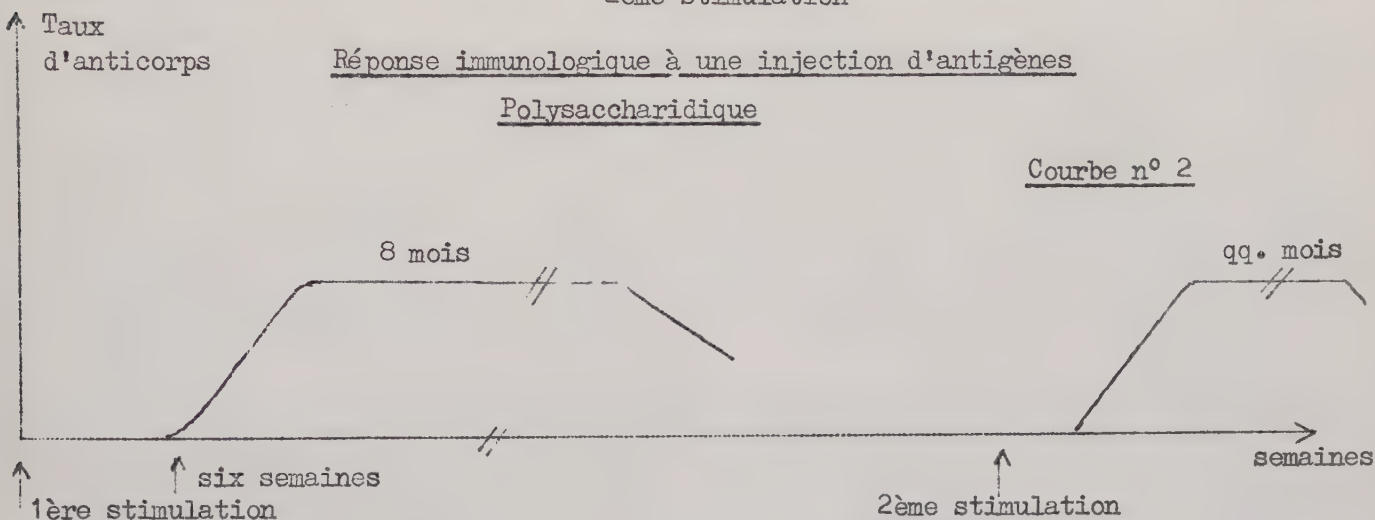
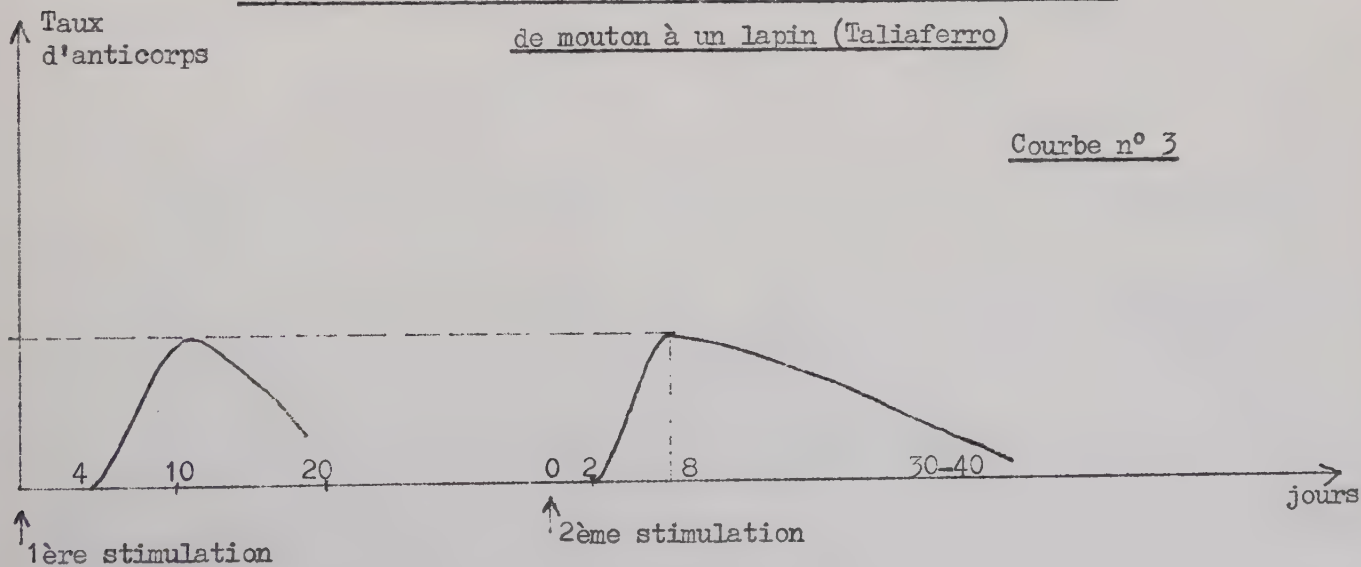
Une deuxième stimulation étant provoquée par le même antigène après la disparition des anticorps: ceux-ci sont à nouveau titrables vers le 4ème jour après l'injection, le maximum est atteint en 10 jours et le taux est beaucoup plus élevé, la disparition complète de l'anticorps se produit en deux mois environ. (DIXON) (80).

- b)- Lors des immunisations avec un antigène polysaccharidique l'anticorps est détecté chez l'homme après une latence de 6 à 8 semaines (courbe n° 2 - tableau B) et persiste quelques mois. Cette constance de l'anticorps après une première stimulation est due à l'antigène polysaccharidique dont le métabolisme cellulaire peut difficilement faire la transformation et l'élimination.

Une seconde stimulation après disparition de l'anticorps du sérum donne une réponse plus rapide mais le titre maximal ne dépasse pas celui de la première stimulation. Il y a un effet de mémoire immunologique mais pas d'effet de rappel sur le taux de l'anticorps. La persistance de l'anticorps dans le sérum dure plusieurs mois.

- c)- Un type intermédiaire à ces réponses immunologiques a été obtenu en 1952 (TALIAFERRO) en injectant des globules rouges de mouton à un lapin. Après une première stimulation (courbe n° 3 - tableau B) l'anticorps a pu être titré au quatrième jour, le maximum est atteint en 10 jours pour se négativer entre le 10^e et 20^e jour. Une deuxième stimulation, après la chute complète des anticorps sériques, est suivie d'un temps de latence de deux jours seulement avant la réponse immunologique, mais le titre maximum obtenu est le même que lors de la première stimulation bien que plus rapidement atteint. La chute et la disparition d'anticorps se produit en une trentaine de jours.

Conclusion: Ainsi suivant la substance immunogène injectée, la date d'apparition, le taux et la durée de l'anticorps dans le sérum varie.

Réponse immunologique après injection d'antigènesProtéique à un lapin (Dixon)Réponse immunologique à une injection d'antigènesPolysaccharidiqueRéponse intermédiaire suite à injection de globules rougesde mouton à un lapin (Taliaferro)

L'iso-immunisation anti-leucocytaire

Seuls les iso-leuco-anticorps seront considérés. Toutes les immunisations sont faites entre des individus de groupes érythrocytaires identiques.

1.- Lors des polytransfusions iso-groupe érythrocytaire une sensibilisation progressive des leucocytes des donneurs est mise en évidence par la technique de leuco-agglutination (26). Les premiers anticorps immuns antileucocytaires à la suite de polytransfusions de sang provenant de divers donneurs sont présents vers la vingtième transfusion. L'immun sérum prélevé à la 20ème, 50ème, 162ème transfusions, testé sur dix variétés leucocytaires donne :

- une réaction positive sur dix à la 20ème transfusion
- six réactions positives sur dix à la 50ème "
- neuf réactions positives sur dix à la 162ème "

Désensibilisation : Six mois après cessation des transfusions la moitié des cellules testantes sont encore agglutinées. Un an après l'arrêt des transfusions toutes les réactions sont négatives.

2.- Immunisation anti-leucocytaire par immunisation du même sang (27). Trois groupes de deux individus ont reçu 18 transfusions, chacune avec le sang d'un même donneur. Les leuco-agglutinines sont apparues chez 4 des 6 receveurs. Dans les quatre cas les leuco-agglutinines actives sur les leucocytes des donneurs existaient dès la 7ème transfusion.

Ces immuns sérums anti-leucocytaires ont été testés sur un panel de 36 variétés cellulaires. On constate :

- Que le titre agglutinant augmente et passe de $1/4$ au $1/16$ entre la 7ème et la 18ème transfusion, et jusqu'au $1/164$ pour un autre sujet.
- Que le nombre de variétés cellulaires agglutinées augmente avec le nombre d'immunisations, à la 7ème immunisation une variété cellulaire sur 36 est agglutinée.

A la 15ème immunisation 5 variétés sur 36
Et à la 18ème immunisation 10 variétés sur 36.

L'étude n'a malheureusement pas été poursuivie afin de voir si toutes les variétés cellulaires auraient été ou non agglutinées. Les propres cellules du receveur n'étaient pas agglutinées ainsi que quelques autres des variétés cellulaires. Il est à noter que les anticorps sont apparus plus vite par immunisation avec les cellules du même donneur qu'au cours des transfusions provenant de plusieurs donneurs.

3.- Chez les femmes multipares des anticorps leuco-agglutinants et cytotoxiques sont trouvés dès la deuxième grossesse et pouvant varier de 5 à 19 % selon la technique utilisée après la troisième grossesse. (49) (64) (65). Des transfusions antérieures favorisent leur apparition et inversement, il y a une prédominance féminine chez les polytransfusés formant des leuco-agglutinins. Les anticorps de multipares ont un titre bien plus bas que celui des malades transfusés : il ne dépasse habituellement pas le $1/8$. Ils sont actifs contre les leucocytes du père et de certains ou de tous les enfants. Ils peuvent persister longtemps après l'accouchement ou disparaître progressivement agglutinant de moins en moins de variétés de leucocytes testés. Ils sont plus purs que les sérums de polytransfusés. Il est à noter que certains sérums sont agglutinants et cytotoxiques, d'autres agglutinant sans être cytotoxiques et vice-versa.

Analyse des réponses primaires et secondaires

1.- Les immuns globulines : STAVITSKI (86) a montré que lors d'une réponse primaire on observe une production vers le 2ème ou 4ème jour d'immuno globuline 19S suivie vers le 4ème au 6ème jour d'une phase où sont synthétisés des anticorps 7S. Par contre lors d'un processus secondaire il y aurait d'emblée synthèse d'immuno globuline 7S. Il faut noter que le taux des immuno globulines 7S augmente à chaque stimulation tandis que le taux de Ig M est atteint dès la première fois pour ne plus être dépassé par la suite.

2.- Nombre et qualité des anticorps : La répétition des immunisations a un effet sur le nombre des anticorps. Certains antigènes provoquent une stimulation et une réponse par apparition très rapide d'anticorps et de titre élevé. D'autres antigènes provoquent la formation d'anticorps à des titres plus faibles ou encore après un nombre d'immunisations plus grand. Ceci est mis en évidence par le fait qu'une suite d'immunisations avec des cellules d'un même donneur fournit des immuns sérums donnant une réaction d'agglutination avec un nombre de variétés cellulaires de plus en plus grand.

(Pour la plupart des auteurs HARRIS, SIMINOVITCH, CINADER, BARR, GLENY, RAYNAUD et RELYVELD (I.P.) (80). l'avidité des anticorps et leur affinité pour l'antigène augmente avec les progrès de l'immunisation.)

2.- Famille d'anticorps : D'autre part, la réponse immunologique a un antigène n'est pas identique pour tous les organismes. En effet, bien que tous les anticorps soient spécifiques de l'antigène, les ayant provoqués l'inhibition de la réaction de précipitation par des sucres, ne nécessite pas le même nombre de sucres suivant que l'on utilise un anticorps d'un individu ou de son voisin (50) (80).

Ainsi pour inhiber un sérum le tétraoside est deux fois plus actif que le disioside et pour un autre sérum il est cinq fois plus actif. La preuve de cette hétérogénéité a par ailleurs été apportée par la séparation chimique de population d'anticorps possédant des sites de dimensions différentes vis-à-vis d'un même antigène et ceci dans un même sérum (KABAT) (50).

Conclusion : Nous n'avons pas dans un sérum un seul anticorps dirigé contre un antigène mais toute une famille d'anticorps spécifiques, famille variant avec le temps et le nombre d'immunisations. Dans les sérums de polytransfusés, de multipares ou d'immunisés volontaires par des leucocytes, c'est-à-dire par une mosaïque d'antigènes, le nombre d'anticorps peut être grand, et les

difficultés qui vont être rencontrées en absorption avec la plupart des sérums, fort nombreuses. Le temps de prélèvement sera aussi un facteur important pour obtenir le sérum le plus pur possible, tant chez les multipares que chez les immunisés volontaires.

CONFLIT ANTIGENES-ANTICORPS CIRCULANT

Cette réaction aboutit à la formation d'un complexe physicochimique entre immuno-globulines et leucocytes, leur union est hautement spécifique, conditionnée par la configuration spatiale des molécules. La mise en évidence de cette combinaison, au cours de cette étude, est faite en leuco-agglutination in vitro (30). Ceci s'effectue également dans l'organisme : dans le sang, les tissus et les parois des vaisseaux. Elles sont réglées par des concentrations relatives des deux substances, par l'équilibre ionique et physicochimique du milieu environnant.

Au micro-cinéma (BESSIS) (9) on a observé que la leuco-agglutination est précédée d'un stade où les leucocytes émettent des pseudopodes très actifs. Les cellules sont reliées entre-elles par de longs filaments, au bout de dix minutes les leucocytes s'accolent donnant des images en rosette unis à un point central par des filaments radiés. Le chauffage préalable du sérum facilite cette agglutination. Selon FINCH le sérum anti granulocytes aurait un pouvoir agglutinant plus intense que le sérum anti-lymphocyte.

IV - MATERIEL ET TECHNIQUE

Les sérums utilisés sont des sérums de multipares prélevés 10 à 15 jours après l'accouchement. Le sang est recueilli en sac FENWAL JE-1* en plastique, stérile, et sans anti coagulant. Ou des sérums d'immunisés volontaires prélevés par plasmaphérèse au moment où le taux d'anticorps est suffisant. Cette plasmaphérèse est réalisée en sac FENWAL PA-20 de 500 ml., sur anti coagulant (ACD, formule A) **.

Ce plasma est recoagulé à l'aide de chlorure de calcium (1,1 g. C12 Ca pour 400 ml de plasma). Tous les sérums sont répartis en flacons de 50 ml. Ils sont additionnés d'azide de sodium au 1/1000 du volume en dilution finale (en pratique 0,1 ml d'azide de sodium à 10 % pour 10 ml de sérum) et conservés à - 20°.

Les leucocytes : Les immuns sérums sont testés sur un panel de leucocytes vivants provenant de donneurs volontaires.

I.- TECHNIQUE DE LEUCO-AGGLUTINATION UTILISANT LE POLYBRENE ET LE PHENOL (30)

1.- Prélèvement du sang :

15 ml de sang sont prélevés dans un tube siliconé, contenant 0,15 ml. d'EDTA à 10 % en saline.

2.- Préparation de la suspension leucocytaire :

a)- Elimination des plaquettes : les tubes sont centrifugés à 350 G*** pendant 15 minutes puis ralentis progressivement pendant 15 autres minutes. L'arrêt de la centrifugeuse doit se faire très doucement. Après cette centrifugation, les hématies et les leucocytes sont sédimentés et le plasma surnageant est riche en plaquettes. Décanter ce plasma dans un tube non siliconé et le centrifuger à 1.350 G pendant 15 minutes. On obtient ainsi un plasma pauvre en plaquettes.

* FENWAL Laboratoires - MORTON GROVE - Illinois - U.S.A. -

** Chaque flacon contient 75 ml d'anticoagulant - 0,8 % d'acide citrique - 2,2 % de citrate de sodium - 2,45 % de dextrose en eau physiologique.

*** C'est à dire à 700 tours/minute d'une centrifugeuse de table JOUAN Abis d'un rayon de 12,5 cm.

Remettre ce plasma dans le tube initial contenant les hématies et les leucocytes. On reconstitue ainsi le sang initial mais sans les plaquettes. Néanmoins, il faut garder un cm^3 de plasma pour diluer éventuellement la suspension leucocytaire.

b)- Sédimentation des hématies : Ajouter dans chaque tube 0,3 ml. de polybrène*. Retourner le tube environ vingt fois. Essuyer soigneusement les parois intérieures de ce tube avec une gaze. Laisser sédimenter verticalement pendant trente minutes à la température de laboratoire. Centrifuger alors le tube à 15 G** pendant cinq minutes et ralentir progressivement pendant cinq autres minutes; l'arrêt de la centrifugeuse doit se faire extrêmement doucement. Il reste le plus souvent après centrifugation une ligne formée de globules rouges sédimentés sur la paroi inférieure du tube. Afin d'éliminer cette ligne, tourner les tubes de 180° par rapport à leur axe et centrifuger de nouveau dans les mêmes conditions que précédemment jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de ligne de sédimentation. Décanter le surnageant. On obtient ainsi une suspension leucocytaire pratiquement pure.

c)- Ajustement de la suspension :

Faire une numération. La quantité optimale de leucocytes est 6.000 par mm^3 . Si la suspension est pauvre, la concentrer par centrifugation à 300 G pendant 10 minutes et la resuspendre dans un volume calculé de plasma. Si le nombre de leucocytes est supérieur à 6.000/ mm^3 diluer la suspension avec le propre plasma du donneur (1 cm^3 de plasma ayant été conservé lors de l'élimination des plaquettes).

Ajouter de l'EDTA à 10 % à raison de 0,1 ml. de suspension afin d'éviter les fausses agglutinations.

* Polybrène : Laboratoire ABBOTT lots n° 6968 ou 718-3642 ou 728-3577

** C'est-à-dire 127 tours/minute de la même centrifugeuse.

3.- Préparation des sérums :

Au moment de l'emploi les sérums sont décongelés puis inactivés par chauffage à 56°C pendant trente minutes. S'ils sont troubles les centrifuger pendant 20 minutes à 16.000 tours/minute par exemple dans une centrifugeuse SERVALL à 4°C, en utilisant les tubes plastiques spéciaux.

4.- Réaction proprement dite :

Elle se fait dans un tube de 9 x 40mm. (9mm de diamètre extérieur) dont les fonds sont ronds et réguliers.

Placer :

- 1 goutte de sérum inactivé,
- 1 goutte de solution de phénol au 1/30 en saline de la solution saturée,
- 1 goutte de suspension,
- mettre à l'étuve à 37°C pendant 1 heure 30.

La lecture est faite directement en regardant au fond du tube grâce au microscope inversé (grossissement de 60 à 100). Le surnageant n'est pas décanté et aucune substance hémolysante n'est ajoutée. Une très légère agitation du tube permet de voir :

- en cas de négativité : les leucocytes libres se déplacent comme un voile dans lequel il n'y a pas d'agglutinats.
- en cas de positivité : les leucocytes se déplacent par masses plus ou moins importantes selon l'intensité de l'agglutination qui est cotée de + à ++++. Certaines réactions sont positives faibles (+), de rares réactions sont douteuses (+).

II TECHNIQUE D'ABSORPTION

A.- Préparation des leucocytes pour la technique d'absorption

Deux méthodes peuvent être employées.

1.- Première méthode :

a)- Prélèvement de sang : le sang est prélevé, le jour même de l'absorption, sur sequestrène à 5 % en saline donnant une concentration finale de 1/500.

b)- Préparation de la suspension leucocytaire : le sang prélevé est additionné d'une quantité égale d'eau physiologique stérile et d'une solution de Dextran* à 5 % en eau physiologique (P.M. 160.000). Le volume de Dextran ajouté est égal au quart du volume de sang prélevé. La sédimentation s'effectue en tube à essai de 22mm. de diamètre, non siliconé, les tubes sont inclinés à 45° pendant 20 minutes puis verticaux pendant 10 minutes. Le surnageant est décanté à la trompe à vide et le culot est remis en suspension dans des quantités d'eau physiologique et de solution de Dextran égales aux quantités ajoutées avant la première sédimentation. Une deuxième sédimentation s'effectue dans les mêmes conditions que la première et le surnageant également décanté à la trompe vide. Les deux surnageants sont additionnés et centrifugés à 3.000 tours/Minute pendant 10 minutes à + 4°C. Le culot de leucocytes est repris et mis en suspension en eau physiologique. Une numération est effectuée afin d'obtenir la suspension de leucocytes voulue.

2.- Deuxième méthode :

Nous avons mis au point une nouvelle technique intéressante pour obtenir des leucocytes et rendre le culot érythrocytaire au donneur et ceci dans un minimum de temps. Elle a également l'intérêt de ne pratiquer qu'une seule intraveineuse diminuant ainsi les désagréments du donneur volontaire. Le sang est prélevé dans un flacon de transfusion de 500cc. contenant 100cc. d'une solution d'anti-coagulants stérile apyrogène (acide citrique monohydrate).

(*voir page 28)

1,66 gr. glucose anhydre 2 gr, hydroxyde de sodium 0,60 gr, H₂O q.s.p. pour 100 ml.), et 200 cc. de plasmagel glucosé, désodé, (gélatine fluide 2,50 gr., glucose 5,5 gr., eau distillée q.s.p. 100 ml.). La quantité de sang prélevé est de 250 cc.

Le flacon de prélèvement (tableau C) est muni d'une prise d'air courte, d'une prise d'air longue, clampée et d'une tubulure pour prise de sang en plastique montée avec une :

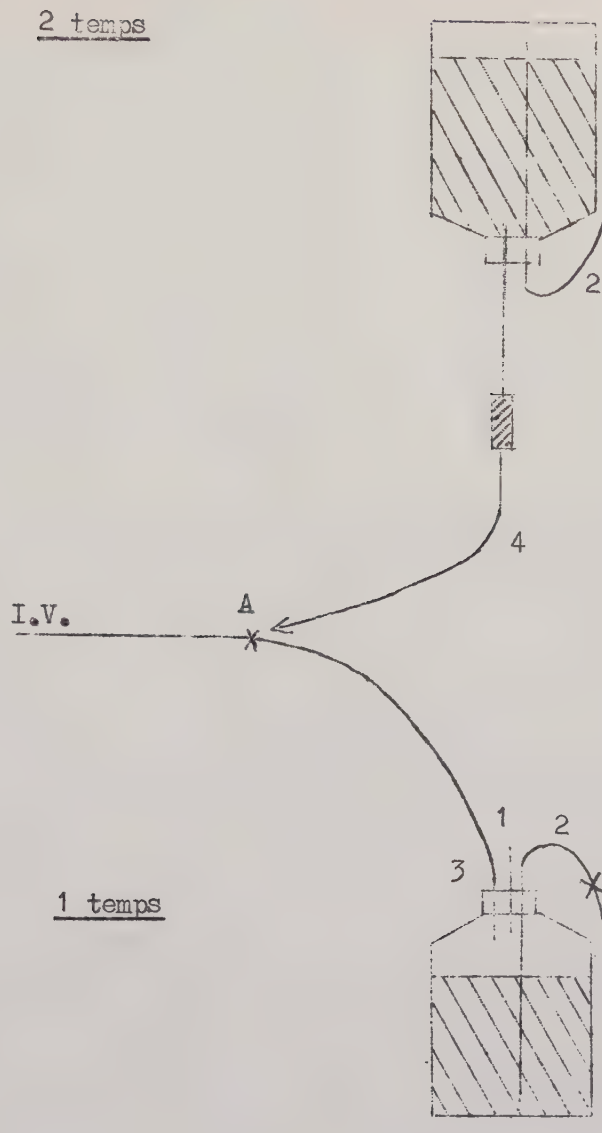
aiguille intraveineuse de 18 x 10. Le flacon une fois rempli, l'aiguille restant en place dans la veine, la tubulure en plastique est clampée et sectionnée. Un nécessaire à transfusion est rapidement branché sur le flacon, la tubulure est purgée et raccordée à la tubulure de prise de sang. Dans le même temps, la prise d'air courte a été enlevée, la prise d'air longue déclampée et le flacon retourné. La retransfusion s'effectue en goutte à goutte lent (10 gouttes/minute environ). En 15 à 20 minutes la sédimentation des globules rouges est effectuée dans le flacon à ce moment, la retransfusion du culot est accélérée. Le temps mis à prélever le sang et à retransfuser le culot érythrocytaire varie entre 30 et 45 minutes.

La récupération des leucocytes se fait par centrifugation du surnageant à 3.000 tours pendant 10 minutes à +4°C. Le rendement de cette technique est d'environ 50 % des leucocytes du sang total.

Il faut cependant noter que nous avons observé au cours d'expériences préliminaires une légère hémolyse lorsque le sang est laissé en milieu plasmagel glucosé, désodé pendant 1H30 à 2Heures, Ce temps est de beaucoup supérieur à la durée de la manipulation.

Page 28:* Nécessaire à transfusion :Type TR.116 M.D Laboratoires
Bruneau et Cie 17.R.de Berri Paris 8è

Page 27:*Préparation de la solution de Dextran spécial à 5% 50gr. de Dextran de poids moléculaire 160.000 (Poviot production N.V Maurits Rade, 14-Amsterdam et Ets L.Ph.Van Nierop; 18.R.Chatran, Neuilly s/Seine) sont mis à dissoudre dans 900ml. d'eau physiologique à 8gr. de NaCl par litre. Le chauffage jusqu'à ébullition est nécessaire pour obtenir une dissolution complète. Après refroidissement le volume est complété à 1.000ml. avec de l'eau physiologique. La solution ainsi préparée est alors filtrée stérilement sur filtre Karlsson ou Seitz E.K.S. et conservée stérilement.



- 1 - prise d'air courte (utilisée seulement dans le premier temps)
- 2 - prise d'air longue (clampee nécessaire seulement dans le 2 temps)
- 3 - tubulure à prélèvement de sang, sera sectionnée au point A avant le deuxième temps et remplacée par la tubulure 4
- 4 - nécessaire à transfusion raccordé au point A, à la tubulure de prise de sang pour le deuxième temps.

B.- Absorption : Facteurs intervenant dans la réaction

Ce phénomène d'absorption est une réaction physico-chimique se produisant entre un antigène soit protéique, soit glucidique, ou glucoprotéique, et une protéine qui est une immuno-globuline. Cette réaction de fixation spécifique est due à des forces non covalentes mais à des attractions polaires, des liaisons hydrogènes, des attractions électrostatiques, des forces de van der Waals. L'absorption est due à une complémentarité dans l'espace entre les sites spécifiques de l'anticorps et les motifs antigéniques donnant la formation d'un complexe stéréospécifique.

Cette absorption des anticorps d'un immun sérum sur des antigènes cellulaires (ici des leucocytes) élimine des sérums, tous les anticorps reconnaissant un site recombinant spécifique sur ces cellules et eux seuls. Mais cette réaction dépend de plusieurs facteurs notamment du pH de l'ionisation du milieu, de la température, du temps de contact, du titre du sérum et du nombre de cellules employées c'est-à-dire du nombre d'antigènes.

1.- Temps de contact nécessaire entre l'immun sérum et les leucocytes : Si l'on se base sur l'agglutination le temps le meilleur se situe entre 1 heure 30 et 2 heures. Si l'absorption est faite en une seule fois sur une grande quantité de cellules ce temps sera de 1 heure. Si des absorptions successives sont faites sur des petites quantités de leucocytes, le temps d'absorption peut être réduit à 30 minutes. Le sérum, dans ce cas, est retesté sur la variété cellulaire et si l'absorption est incomplète, un autre passage est réalisé. Un temps court évite ou limite une libération possible par les leucocytes. Ce temps de 30 minutes est également celui utilisé par van ROOD (65).

- Température : Des études concernant la technique de leuco-agglutination à $+4^{\circ}\text{C}$, $+22^{\circ}\text{C}$, $+37^{\circ}\text{C}$ ont montré que l'agglutination se produisait avec un optimum, à une température de 37°C .

Cette température a été utilisée pour l'absorption parce que cette technique est celle employée avant et après absorption pour tester l'immun sérum. Il est possible d'ailleurs qu'à une autre température l'on ne détecte pas les mêmes anticorps. De toutes façon, en employant la même température les anticorps mis en évidence seront toujours les mêmes.

- Titre du sérum employé en absorption : Les techniques de leuco-agglutinations et de lymphocytotoxicité montrent que le pourcentage de cellules lysées et l'intensité des réactions d'agglutination varie de 100 % à 10 % et de ++++ à $\pm$ dans un écart de trois à quatre tubes de dilution de l'immun sérum. Cette dilution est faite en progression géométrique de raison 2.

On constate d'autre part, une baisse de titre de moitié dans l'immun sérum due à la dilution au cours de la manipulation d'absorption. Il y a également une disparition aspécifique partielle d'immuno globulines. Il s'ensuit que le titre a choisi, être celui du quatrième tube avant le titre du sérum donnant une réaction négative. Cette dilution est employée également, par Van ROOD (65) et par WALFORD.R.L., R.GALLAGHER et G.M.TROUP.(77).

- Nombre de cellules : C'est avec le titre d'anticorps le point le plus délicat car, si tous les sérums sont différents, toutes les variétés cellulaires n'ont pas le même nombre de sites pour chaque antigène. Si, en effet, la quantité de cellules est trop faible, tous les anticorps spécifiques ne sont pas absorbés. Si d'un autre côté, le nombre de cellules est trop grand, il augmente le nombre d'absorptions aspécifiques ; et l'on est partagé entre la crainte d'une absorption incomplète et celle de la négativation aspécifique d'un bon immun sérum.

Van ROOD utilise, soit 10×10^6 , 20×10^6 , 40×10^6 leucocytes viables (65) pour absorber 0,4ml de sérum. G.M.TROUP N.RAMSEY, R.FLYNN and R.L.WALFORD utilisent de 50 à 100×10^6 lymphocytes pour absorber 1 ml de sérum.

Lorsque l'on étudie l'agglutination des cellules en faisant varier et le titre et le nombre de cellules (tableau D). On constate que l'agglutination obtenue pour un titre le plus faible de l'immun sérum se situe pour une quantité de leucocytes égal à 6.000 par m^3 . Si ceci est dû au rapport le plus favorable entre l'antigène et l'anticorps c'est ce rapport qui devrait être utilisé pour l'absorption. C'es-à-dire que nous avons 6.000 leucocytes par mm^3 , or nous en utilisons une goutte de suspension soit 50 m^3 ou 300.000 leucocytes pour une goutte de sérum. Il s'en suit que pour absorber 1 ml de sérum il faudra 20 fois plus d'ou 6×10^6 leucocytes. Ce chiffre n'est en fait, pas suffisant et l'on observe même parfois des absorptions incomplètes en utilisant 150×10^6 leucocytes, c'est cette dernière quantité qui a été choisie dans ce laboratoire.

En résumé, l'absorption est réalisé à 37°C, pendant une heure, le sérum utilisé au titre indiqué par celui du quatrième tube avant le titre de sérum donnant une agglutination négative et le nombre de cellules absorbantes est de 150×10^6 pour 1 ml de sérum. Le sérum est décomplémenté avant d'être absorbé.

Les difficultés et causes d'erreurs qui peuvent se produire au cours de l'étude d'absorption d'un immun sérum sont les suivantes :

- une absorption incomplète
- un trop faible titre des sérums qui se négativent complètement après absorption
- une trop grande quantité de cellules absorbantes utilisées augmentant ainsi la disparition aspécifique des anticorps
- un phénomène de leukergie de Fleck
- une précipitation des protéines au cours de la décongélation due à un gradient de concentration qui se produit si le sérum n'est pas agité.
- Enfin, SCHIFT et BOYD notent que certains sérums qui paraissent complètement absorbés aux premiers essais font apparaître ensuite des réactions non spécifiques parfois d'autant plus que le sérum est plus ancien.

Tableau D

Sérum n° 48

Cellules GUI

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
10.000	+++	+++	++	±	-	-	-	-	-	-
9.000	+++	+++	++	+	(+)	-	-	-	-	-
8.000	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
7.000	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-	-
6.000	+++	+++	++	++	++	-	-	-	-	-
5.000	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-
4.000	+++	+++	+	+	-	-	-	-	-	-
3.000	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-

Sérum n° 80

Cellules GUI

	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
9.000	+++	++	++	+	+	-	-	-	-	-
8.000	+++	+++	++	++	+	±	-	-	-	-
7.000	+++	+++	+++	++	+	+	-	-	-	-
6.000	+++	+++	++	++	++	+	(+)	-	-	-
5.000	+++	+++	++	++	++	+	-	-	-	-
4.000	-	++	++	++	+	(+)	-	-	-	-
3.000	-	++	++	+	+	-	-	-	-	-
2.000	-	+	++	++	±	-	-	-	-	-

III TECHNIQUE D'IMMUNISATION

A.- Greffe de peau

Selon la technique de Converse J.M. and Rapaport F. The vascularisation of skin autograft and skin homografts. An Experimental Study in Man. Ann. Surg. 143, 306, 1958.

B.- Technique d'isolement de leucocytes viables en vue d'immunisation intradermique

Le sang est prélevé en tube à vis de 30 cc sur une solution anticoagulante de citrate de sodium à 3,8 g % et contenant 10 ml de Plasmagel, glucose, désodé (du Laboratoire Roger Bellon), 159 av. du Roule, Neuilly (Seine).

Le tube est incliné à 45° pendant 10 à 20 minutes, puis vertical 10 à 15 minutes.

- Le surnageant est prélevé, est centrifugé, pendant 10 minutes à plus 4° à 1500 tours, dans un deuxième tube à vis.

- Le surnageant est éliminé et le culot est remis en suspension en eau physiologique stérile (1 cc).

- Le culot est injecté en intradermique, le matériel utilisé est stérile et toutes les manipulations sont réalisées aseptiquement.

Immunisation par injection de leucocytes et de plaquettes congelées à - 20° C

250 cc de sang sont prélevés selon la technique mise au point pour obtenir des leucocytes en vue d'absorption.

Le culot de leucocytes obtenu est remis en suspension en eau physiologique stérile, numéré et répartis en ampoules scellées. Ces ampoules sont conservées à - 20°.

La première immunisation est réalisée le matin même avec des leucocytes vivants. Lors des immunisations suivantes, l'ampoule à utiliser sera décongelée rapidement.

V.- IMMUNISATIONS ENTRE MEMBRES D'UNE MEME FRATRIE

Des immunisations entre donneurs volontaires ont déjà été réalisées, mais le but étant ici d'obtenir des immuns sérums antileucocytaires monospécifiques, il a été décidé de provoquer des immunisations croisées entre individus les plus proches génétiquement. De façon à avoir la plus faible différence antigénique et par suite par immunisation d'obtenir des immuns sérums de spécificité étroite.

Théorie

Les immunisations entre membres d'une même fratrie sont plus intéressantes qu'entre parents - enfants.

Si le locus ne possède que deux allèles A et B, il y a quatre types de mariages possibles :

	Un parent donne à enfant	Enfants entre eux
1. AA x AA	100 % compatibles	100 % compatibles
2. AA x BB	100 % compatibles	100 % compatibles
3. AB x BB	75 % compatibles	75 % compatibles
4. AB x AB	50 % compatibles	62 % compatibles

En effet dans le mariage de type 4 :

Enfants receveurs :

		AA 25 %	AB 25 %	AB 25 %	BB 25 %	
Donneurs	AA	C	C	C	I	10 compatibles sur 16 possibilités soit 62 %
	AB	I	C	C	I	
	AB	I	C	C	I	
	BB	I	C	C	C	

Dans les types de mariage 1, 2, 3 le pourcentage de compatibilité entre parent à enfant et d'enfant à enfant est le même. Mais dans le type 4, le pourcentage de compatibilité entre enfants est plus grand que de parent à enfant.

Si le locus possède 4 allèles ou plus de fréquence égale par exemple AB x CD, il y a également une compatibilité plus grande entre frères qu'entre parent à enfant par exemple.

Parents AB x CD

Les enfants sont
AC, AD, BC, BD

		Receveurs (enfants)			
		AC 25 %	AD 25 %	BC 25 %	BD 25 %
Enfants donneurs	AC	C	I	I	I
	AD	I	C	I	I
	BC	I	I	C	I
	BD	I	I	I	C

C = compatible

I = incompatible

alors que le père ou la
mère sont toujours in-
compatibles :

		Receveurs (enfants)			
		AC	AD	BC	BD
Parents donneurs	AB	I	I	I	I
	ou CD	I	I	I	I

Ainsi la probabilité d'identité antigénique, ou de tenue de greffe est au moins égale et quelquefois meilleur d'enfant à enfant que de Parent à enfant. Ce qui a amené à pratiquer des immunisations entre frères.

Pratique

Trois paires de frères GEO-ANT, RAY-LEO, REN-HEN, sont volontaires Dans chacun des couples, un frère GEO, RAY, REN, avait déjà reçu une greffe de peau d'un étranger, le premier GEO en 1962, RAY et REN en 1963. Le frère de

chacun de ceux-ci n'avait jamais été immunisé, ni transfusé auparavant.

Comparaison des groupes leucocytaires de chacun de ces couples :

Antigènes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
GEO	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+
ANT	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-
HEN	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
REN	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
LEO	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-
RAY	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+

Les leucocytes de tous ces donneurs ont passé sur un panel de 50 sérums et ont été étudiés en leuco-agglutination et cytotoxicité.

Ces leucocytes ont été agglutinés ou lésés par un certain nombre de sérum et leur groupe leucocytaire a été supposé être, par rapport aux dix antigènes connus, positifs pour certains négatifs pour d'autres. Selon les critères employés dans le laboratoire pour la détermination des antigènes leucocytaires. Evidemment il ne faudrait pas être trop rigoriste car un groupe leucocytaire peut être défini comme positif pour 5 sérums agglutinant^s sur 7 et à plus forte raison pour 6 sur 7 et 7 sur 7. Et pour comprendre mieux certaines réactions, il vaut mieux se reporter aux différences obtenues sérum par sérum.

Si l'on se base sur ces antigènes,

GEO immunisé par ANT doit produire un anti 3 et peut-être un anti 6

ANT immunisé par GEO, doit produire un anti 10

HEN immunisé par REN, devrait produire un immun sérum contenant des anticorps anti
9 - 10

REN immunisé par HEN contient tous les antigènes de ce dernier, ne devrait donc
pas produire d'anticorps

LEO immunisé par RAY devait produire un Anti 9 10

RAY immunisé par LEO devrait produire un Anti 3.

Avant immunisation croisée, le sérum de ces volontaires ne contenait aucun allo anticorps antileucocytaire.

Méthodologie

Deux paires de frères (ANT-GEO) et (HEN-REN) vont d'abord recevoir une greffe de peau croisée, puis des injections intra-dermiques de leucocytes.

Une paire de frères (RAY-LEO) recevra seulement des injections de leucocytes.

1.- Les injections intra-dermiques devaient se répéter à intervalle régulier tous les 10 à 12 jours, malheureusement il n'a pas été toujours possible de les maintenir.

2.- Les quantités de leucocytes injectées se situent entre 50×60^6 et 100.10^6 pour les quatre premières injections et entre 100.10^6 et 200×10^6 pour les suivantes.

3.- Ces injections sont faites en intra-dermo dans la région deltoïdienne, le sérum est prélevé et testé en titre en agglutination et lymphocytotoxicité à intervalle régulier, pour déceler l'apparition des anticorps.

A. - Iso immunisation anti-leucocytaire par greffe de peau et injection intra-dermiques de leucocytes

- Monsieur GEO, a reçu en 1962 une double greffe de peau d'un donneur A M B, à cette époque son sérum ne contenait aucun iso leuco-anticorps ; puis le 6 janvier 1966, une greffe de peau de son frère ANT, suivie d'une série d'injections intra dermiques de leucocytes du même donneur. Les injections ont été faites au : 10 ème jour, 25ème jour, 61ème jour, 68ème jour, 76ème jour (tableau C - courbe n° 1). Les anticorps apparaissent dès la première injection pour atteindre un taux de $1/32$ en cytotoxicité et leuco-agglutination. Un arrêt des immunisations pendant 35 jours amène une chute rapide du taux d'anticorps au $1/4$ en leuco-agglutination et au $1/18$ en cytotoxicité. Une série de 3 nouvelles injections ramène le taux d'anticorps au $1/32$ en cytotoxicité, les anticorps leuco-agglutinant restent à un plateau.

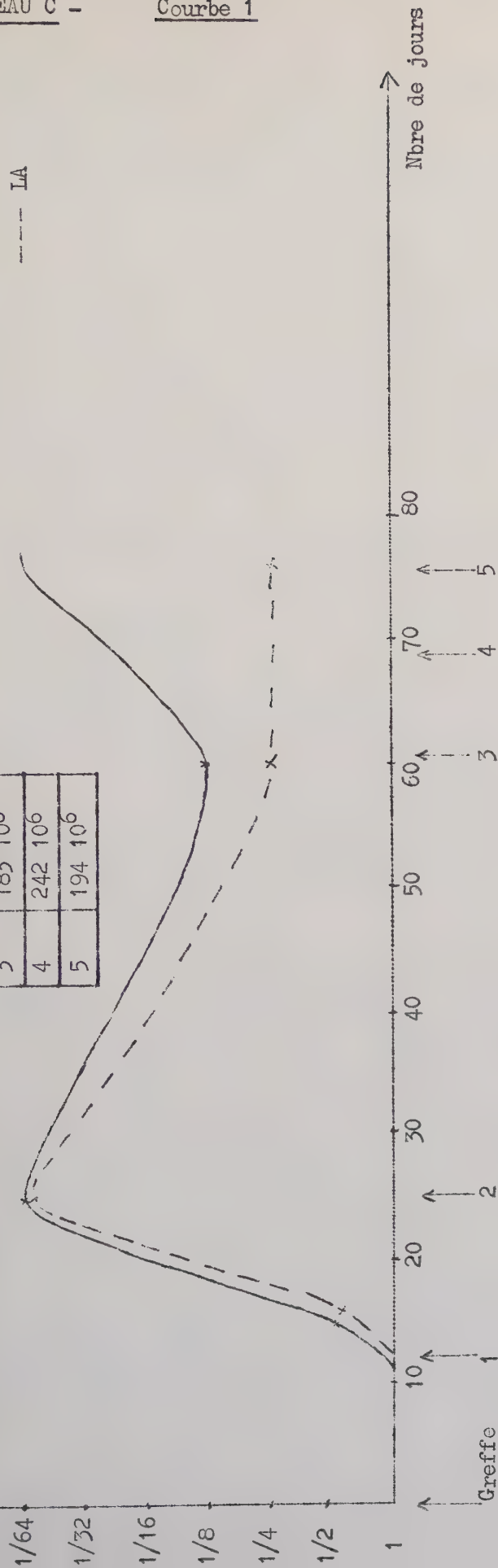
Le receveur ANT n'avait jamais été immunisé ni transfusé. Le 6 janvier 1966, il a reçu une greffe de son frère GEO, puis une série d'injection

Immunisation I.D. leucocytes

1ère	59 10 ⁶
2	72 10 ⁶
3	183 10 ⁶
4	242 10 ⁶
5	194 10 ⁶

Titre
GEO LHE.
A reçu en 1962
2 greffes de AMB

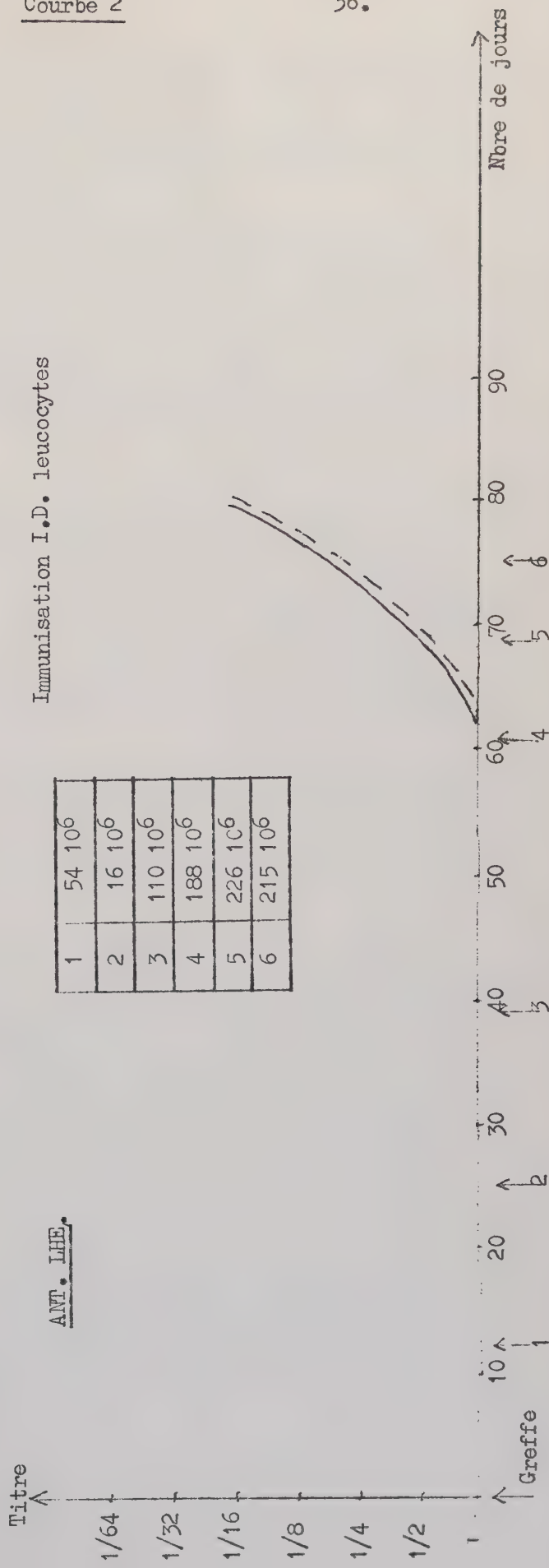
--- Cyto
--- IA



Immunisation I.D. leucocytes

1	54 10 ⁶
2	16 10 ⁶
3	110 10 ⁶
4	188 10 ⁶
5	226 10 ⁶
6	215 10 ⁶

Titre
ANT. LHE.



intra dermique de leucocytes du même donneur les 12ème, 25ème, 37ème, 62ème, 69ème, 75ème jour. Après la greffe les anticorps sont apparus au 62ème jour lors de la quatrième immunisation intra dermique. Le titre en anticorps cytotoxique et leuco-agglutinant évolue parallèlement (tableau C - courbe n° 2).

- Le receveur HEN n'avait jamais été ni transfusé, ni immunisé, a reçu une greffe de peau de son frère le 6 janvier 1966, suivie d'injections intra dermiques de leucocytes du donneur de peau le 35ème, 47ème, 62ème, 76ème jour. Les anticorps cytotoxiques et leuco-agglutinants sont apparus 40 jours après la greffe, quatre à dix jours après la première immunisation intra dermique (tableau D, courbe n° 1).

B.- Obtention d'anticorps par injection intradermique de leucocytes seuls

- Le receveur REV. Ray. a eu une greffe de peau d'un étranger en 1962. Des immunisations intra dermiques de leucocytes le 1er, 12ème, 23ème, 40ème, 48ème, 56ème, 64ème, 72ème, 80ème, 87ème jour ont permis d'obtenir des anticorps cytotoxiques après la 5ème immunisation. Les doses injectées varient aux alentours de 100×10^6 leucocytes (tableau D, courbe n° 2).

Par contre, nous n'avons pas pu pour le moment obtenir des anticorps avec 10 injections intra dermiques de leucocytes chez un receveur (REV. LEO) qui n'avait jamais été polytransfusé, greffé, ni immunisé en aucune sorte dans les années précédentes.

En conclusion, les anticorps iso leucocytaires apparaissent très rapidement si le receveur a reçu une greffe de peau dans les années précédentes et si les immunisations I.D. de leucocytes sont précédées d'une greffe de peau. Les anticorps apparaissent vers la deuxième ou troisième immunisation I.D. si une greffe de peau de même donneur a été pratiquée en début d'immunisation. Des injections intra dermiques non précédées de greffe n'ont pas permis encore d'obtenir des anticorps avec 10 injections intra dermiques successives composées chacune d'au moins 100×10^6 leucocytes vivants.

Il n'a pas été possible de continuer d'immuniser son frère REN du fait d'un voyage de ce dernier. Toutefois la greffe de peau de REN a tenu 43 jours (date du début de souffrance du greffon) et un rejet final le 61ème jour.

Greffe de peau

Immunisation I.D. leucocytes du donneur de peau

1	105 10 ⁶
2	92 10 ⁶
3	100 10 ⁶
4	244 10 ⁶
5	244 10 ⁶

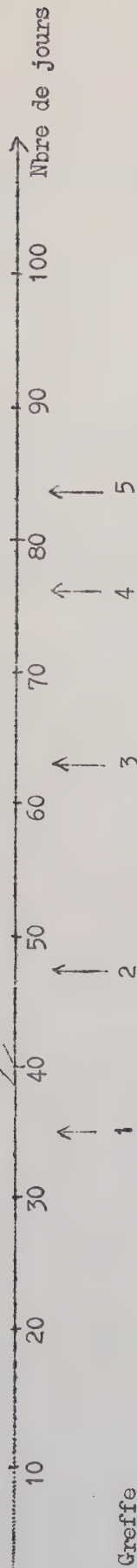
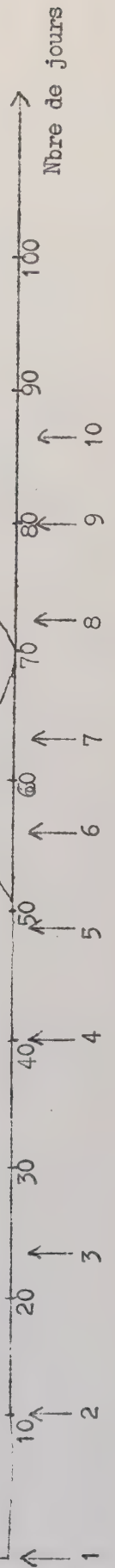


TABLEAU D - Courbe 2

	REV. RAY.	REV. LEO.
1	79 10 ⁶	105 10 ⁶
2	113 10 ⁶	182 10 ⁶
3	92 10 ⁶	85 10 ⁶
4	56 10 ⁶	52 10 ⁶
5	102 10 ⁶	146 10 ⁶
6	107 10 ⁶	129 10 ⁶
7	119 10 ⁶	52 10 ⁶
8	100 10 ⁶	100 10 ⁶
9	200 10 ⁶	200 10 ⁶
10	180 10 ⁶	150 10 ⁶

Titre



Résultats

Les premiers résultats d'immunisations croisées entre frères sont déjà très intéressants.

- a.- Il a été donné une survie de greffe de peau chez REN, jusqu'au 43ème jour avec expulsion complète de la greffe au 60ème jour.

Les autres greffes de peau entre frère ont été rejetées en 8 à 12 jours

- b.- L'immun sérum obtenu chez GEO se révèle être d'une spécificité étroite et apparaît comme un anti 3, comme le faisait pressentir les groupes antigéniques. Malheureusement nous ne pouvons conclure quant aux autres sérums qui sont encore à l'étude.

VI - ETUDE D'ISOIMMUNS SERUMS ANTI-LEUCOCYTAIRES
POLYSPECIFIQUES PAR ABSORPTION CROISEE

Chaque sérum utilisé pour une étude d'absorption croisée a d'abord été étudiée grâce à un panel de 130 variétés leucocytaires. Parmi ces variétés 10 ont été choisies; 8 parce que agglutinées par ce sérum et deux non agglutinées. Le sérum a été étudié en dilution sur toutes ces cellules afin de connaître le titre à employer et éviter pour les variétés négatives un phénomène de zone.

Dix millilitres de sérum sont nécessaires. Un millilitre va être absorbé sur chacune de ces variétés. Le sérum absorbé va être retesté par technique de leuco-agglutination sur la cellule absorbante et ensuite sur les neuf autres.

Le protocole de rédaction se présente suivant un tableau carré comportant les 100 réactions effectuées. (voir tableau n° I). Une ligne horizontale en haut du tableau va comporter les noms des dix donneurs de cellules indiqués par les trois premières lettres de leur patronyme. Les deux variétés négatives sont placées les dernières. Sur une verticale sont placés les dix noms des donneurs, dans le même ordre.

La lecture du tableau se fait ainsi : 1 ml du sérum est absorbé sur la variété COL (voir tableau n°I), ce sérum absorbé est ensuite testé par la réaction d'agglutination utilisant le polybrène phénol, sur cette même variété COL par exemple et sur toutes les autres cellules dont les noms se trouvent dans cette colonne verticale. La réaction positive ou négative est indiquée dans le carré se trouvant à l'intersection des droites formées par la verticale passant par la cellule absorbante et l'horizontale passant par le nom de la variété testante après absorption.

Si les absorptions ont été complètes toutes les réactions placées sur la diagonale passant par l'angle en haut sont négatives.

TABLEAU I

Sérum n° 9604	COL	MAL	POP	LEF	THO	DEH	DEI	BOR	KUP	LEH	Titre
COL	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	(+)	+++ 1/16
MAL	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++++ 1/8
POP	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	++++ 1/8
LEF	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+++	+++ 1/8
THO	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	++	+++ 1/4
DEH	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++++ 1/16
DEI	-	-	-	-	-	-	-	-	(+)	+	+++ 1/4
BOR	-	-	-	-	-	-	-	-	+	++	++++ 1/16
KUP	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LEH	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 1.- Les résultats portés dans chaque colonne verticale, indiquent si, après absorption du sérum sur la variété nommée au haut de cette colonne, le sérum contient encore des anticorps.
- 2.- Les résultats portés sur une horizontale indique si la variété cellulaire qui la commence est ou non agglutinée par le sérum absorbé sur chacune des autres variétés cellulaires.
- 3.- La diagonale passant par l'angle gauche en haut de la figure indique les réactions obtenues avec le sérum absorbé sur une variété cellulaire et retesté sur cette variété.

Toute réaction positive sur cette diagonale indique une absorption incomplète. Toute réaction positive sur une verticale indique qu'un ou des anticorps existent dans le sérum absorbé.

Trois études d'absorptions croisées d'immuns sérums ont été choisies parmi un grand nombre de tableaux, parce que montrant les différents aspects pouvant apparaître au cours de ces réactions.

- 1)- le tableau carré indique que le sérum n° 9604 est probablement pur, donc contenant un seul iso-anticorps anti-leucocytaire.
- 2)- le tableau carré obtenu avec le sérum n° 9602 montre un sérum contenant deux anticorps, au moins
- 3)- l'étude du sérum 17-6-65, dans le tableau met en évidence une cellule auto-agglutinable et des cellules non agglutinées mais absorbant des iso-anticorps.

SERUM PROBABLEMENT PUR

Tableau I

Le sérum n° 9064 est un sérum de multipare conservé à - 20°, les leucocytes utilisés proviennent de donneurs volontaires et sont identifiés par les deux ou trois premières lettres de leur nom. Testé avant absorption le titre agglutinant varie du 1/4 au 1/16 pour les variétés positives.

Après absorption du sérum sur la cellule COL ce sérum n'agglutine plus cette variété cellulaire, l'absorption est donc complète, retesté sur toutes les autres variétés toutes les réactions sont négatives. Ceci tend à montrer déjà que, avant absorption, ces cellules étaient agglutinées par un ou tous les anticorps absorbé sur COL.

L'absorption de l'immun sérum sur les différentes variétés cellulaires positives provoque également la négativation de la réaction sur toutes les autres cellules.

L'absorption de l'immun sérum sur les variétés non agglutinées (KUP et LEH) n'inhibe pas l'agglutination des cellules positives, ces deux variétés cellulaires n'absorbent pas les anticorps mais la baisse de titre est cependant visible.

En conclusions, le sérum n° 9064 contient donc un ou des anticorps dont tous les antigènes spécifiques sont retrouvés sur les variétés précédemment agglutinées. En effet, le sérum après absorption sur chacune de ces variétés est devenu négatif.

Probabilité pour que cet immun sérum soit pur

Cette probabilité est fonction du nombre de variétés leucocytaires utilisé. Soit n le nombre de variétés et P le pourcentage observé ou possible en fonction de n .*

n	P
10	0 - 0,31
12	0 - 0,27
16	0 - 0,21
24	0 - 0,14
40	0 - 0,09
100	0 - 0,04
1000	0 - 0,004

En utilisant 10 variétés cellulaires, un sérum apparemment monospécifique peut contenir un extra-anticorps pouvant atteindre une fréquence de 31 % dans la population générale. Le nombre de variétés qui donnerait une quasi certitude de monospécificité est trop élevé pour être en fait utilisé.

SÉRUM CONTENANT AU MOINS DEUX ANTICORPS

Tableau II

Avant absorption, le sérum n° 9602 est titré en agglutination et se révèle être à un taux suffisant. Le titre agglutinant du sérum varie de $1/8$ au $1/32$ pour les variétés cellulaires utilisées. Le tableau carré se fait avec 8 variétés positives et deux variétés négatives.

Les cellules COL et TIL ne sont pas agglutinées par le sérum. Après absorption sur ces deux variétés il reste agglutinant. Il faut noter cependant une légère baisse de titre après

TABLEAU II

Sérum n° 9602	ANC	BIG	BIN	BOA	KUN	PAV	ROY	TUR	COT	TIL	Titre
ANC	-	-	-	-	++	+	-	-	+++	+++	+++ 1/32
BIG	-	-	-	-	+++	+	-	-	+++	+++	+++ 1/16
BIN	-	-	-	-	+	+	-	-	+++	+	+++ 1/16
BOA	-	-	-	-	+	+	-	-	++	++	+++ 1/8
KUN	-	-	-	-	-	+	-	-	++	++	+++ 1/8
PAV	-	-	-	-	+	-	-	-	+++	++	+++ 1/8
ROY	-	-	-	-	+++	+++	-	-	+++	+++	+++ 1/8
TUR	-	-	-	-	+	+	-	-	++	+	+++ 1/16
COT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TIL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ac °	-	-	-	-	a	b	-	-	ab	ab	
Ag °°	AB	AB	AB	AB	B	A	AB	AB	-	-	

° Sur cette horizontale sont portés les anticorps restant dans le sérum absorbé sur la variété cellulaire se trouvant à la verticale.

°° Sur cette horizontale sont portés les antigènes supposés se trouver sur chaque cellule.

absorption. Cette baisse de titre est probablement due à la dilution qui s'effectue au cours de la technique d'absorption.

Après absorption sur les cellules ANC, BIG, BIN, BOA, ROY et TUR, le sérum est négatif sur toutes les autres variétés cellulaires. Les antigènes de ces cellules reconnaissent donc les mêmes anticorps de l'immun sérum.

L'absorption sur les leucocytes de KUN a été complète puisque le sérum absorbé n'agglutine plus cette variété, mais il donne une réaction positive avec les 7 autres variétés cellulaires. Il contient donc encore un ou des anticorps (soit a ce ou ces anticorps non absorbés) de même les cellules PAV après absorption ne sont plus agglutinantes, mais la réaction reste positive avec les autres cellules dont celles de KUN. (soit b ce ou ces anticorps).

Les anticorps laissés par les cellules KUN et PAV ne sont pas les mêmes car les cellules KUN sont agglutinées par le sérum absorbé sur PAV et réciproquement. En conclusion, ce tableau peut être expliqué par la présence de deux anticorps a et b dont les antigènes A et B se trouvent sur les cellules ANC, BAG, BIN, BOA, ROY et TUR. Chez KUN simplement l'antigène B et ses cellules laissent dans le sérum absorbé l'anticorps a. La variété PAV ne porte que l'antigène A laissant dans le sérum un anticorps b. Ainsi ce sérum 9602 contient au moins deux anticorps différents.

REACTIONS ANORMALES

Le tableau n° III a été choisi parce qu'il montre plusieurs anomalies permettant d'apercevoir la complexité des réactions parfois obtenues par absorption d'un immun sérum.

Le sérum n° 17.665 est un sérum de multipare dont l'absorption a été étudiée sur 7 variétés leucocytaires positives et 3 variétés négatives.

1.- Cellule auto agglutinante

Après absorption de l'immun sérum sur la variété BAR le sérum absorbé a agglutiné cette cellule, mais aucune des autres

cellules précédemment positives. Ce qui pourrait sembler paradoxal, mais l'on constate également que cette cellule est agglutinée par tous les sérums absorbés. Il s'agit simplement d'une cellule auto agglutinable et non d'une réaction d'agglutination provoquée par des anticorps non absorbés.

2.- Cellule non agglutinée mais absorbant cependant des anticorps

La cellule BES bien que non agglutinée par le sérum n° 17.665 absorbe les anticorps de l'immun sérum car le sérum ainsi absorbé n'agglutine plus les différentes variétés de leucocytes positives avant absorption.

HYPOTHESES

Il ne s'agit pas d'une baisse de titre due à la dilution au cours de la technique car le sérum utilisé est à un titre suffisant avant absorption. En effet, la cellule COI non agglutinée laisse, dans le sérum absorbé, des anticorps en titre suffisant pour agglutiner 7 variétés positives. Il s'agit d'une absorption spécifique d'anticorps sans que cette réaction antigène-anticorps ne provoque d'agglutination.

Il peut s'agir, d'autre part, pour cette cellule BES d'un nombre de sites insuffisants pour que la fixation d'un anticorps puisse l'agglutiner. Par contre, une fois un certain nombre d'anticorps fixés, ceux qui restent dans l'immun sérum ne sont plus suffisants pour agglutiner les autres variétés cellulaires. En somme, il s'agirait d'une baisse de titre par absorption spécifique partielle des anticorps agglutinants.

Une autre hypothèse serait la nécessité pour agglutiner les variétés AMA, BAR, CAN, DEH, DUP, FON, LEG, de la présence de deux anticorps différents a et b. Soit parce que le nombre de sites est insuffisant si l'on ne considère que les sites spécifiques d'un des anticorps présent sur les cellules, soit pour un titre trop faible de chacun des anticorps pris séparément. En somme pour pouvoir agglutiner ces cellules il faudrait la somme de deux anticorps.

Ainsi l'un de ces anticorps est absorbé sur la cellule BES mais ne peut l'agglutiner et l'anticorps restant n'est plus à lui seul capable de provoquer l'agglutination des autres variétés cellulaires. Cette somme de deux anticorps nécessaire pour provoquer des phénomènes de précipitation a été montrée par OUDIN ; par E.MOLLER pour Anti - A + Anti Rh en fluorescence. Dans la démonstration de OUDIN, il s'agissait d'un antigène n'ayant que deux sites A et B et chacun des deux anticorps a et b ne pouvait provoquer seul la formation de réseau et par suite pas de précipitation, par contre la somme des deux anticorps a et b le permet. Evidemment sur une cellule il ne peut s'agir d'un site mais de très nombreux sites pour chaque anticorps. Toutefois, un nombre de sites est nécessaires, nombre au-dessous duquel il n'y a plus d'agglutination de même que par titre d'anticorps et dans les cas limites la somme de deux anticorps différents peut, peut-être, compenser la faiblesse de chacun d'eux, ainsi que la somme des sites.

Une autre explication de ce phénomène d'absorption sans agglutination, peut résider dans la morphologie de la paroi cellulaire. Le site anticorps peut, en effet, se trouver soit sur une crête soit dans une crypte de cette paroi. Dans le cas de la cellule BES le site anticorps se trouverait dans une dénivellation et la faille taille de l'anticorps ne lui permettrait pas d'utiliser son deuxième site. Il se trouverait en quelque sorte enfoui dans la paroi sans pouvoir réaliser de pont avec une autre cellule et par suite l'agglutination.

De même, les cellules DIS non agglutinées par l'immun sérum négativement dépendant complètement la réaction d'agglutination des cellules AMA et DUP. Elle absorbe donc des anticorps et par suite porte des antigènes communs aux cellules AMA et DUP, communs également à BES. La cellule BES porte en plus des antigènes portés également par les cellules DEH, CAN, FON et LEC.

Les cellules COI sont les seules à ne pas posséder aucun site antigénique correspondant à un anticorps du sérum.

En conclusion : L'intérêt de ce tableau réside dans le fait que ces cellules non agglutinables, bien que portant des sites antigéniques, spécifiques des anticorps contenus dans l'immun sérum, ne peuvent être détectés qu'en absorption. Lorsqu'elles n'ont pas été révélées par cette technique, elles sont considérées comme négatives, c'est-à-dire, ne possédant pas tel ou tel antigène, ce qui peut être une cause d'erreur dans les groupes leucocytaires par agglutination. Ceci explique peut-être, une certaine partie des discordances qui existent entre la technique de leucoagglutination et de cytotoxicité, s'il est vrai que les antigènes détectés sont les mêmes. Si non ces antigènes ne sont pas révélés expliquant peut être; des discordances dans les histo-compatibilités entre le donneur compatible et incompatible et la date de rejet des greffes. Et il faudrait peut-être étudier en absorption, la variété de cellule du donneur avec les sérums donnant des réactions négatives pour ne pas tomber dans ce piège.

oooOooo

CONCLUSION

Les groupes leucocytaires et plaquettaires commencent à être mieux connus et peuvent être classés :

- A.- Les antigènes apparemment spécifiques pour une lignée cellulaire qui peuvent être assimilés à des antigènes d'organes, ce sont les anticorps purement anti-plaquettaire, lymphocytaires ou granulocytaires neutrophiles.
- B.- Les antigènes présents à la fois sur les leucocytes de toutes lignées et les plaquettes ainsi que sur les organes jusqu'ici testés qui peuvent être assimilés à des antigènes tissulaires d'histocompatibilité. Ces antigènes font partie d'un ou de deux systèmes principaux.

L'expérience a montré que contrairement aux anticorps anti-érythrocytaires ou plaquettaires qui sont le plus souvent monospécifiques, les anti-corps anti-leuco-plaquettaires ou tissulaires sont, le plus souvent, un mélange de plusieurs anticorps.

Ces divers anticorps peuvent théoriquement :

- a - Etre dirigés contre des antigènes appartenant à un même système
- b - Etre dirigés contre des antigènes appartenant à des systèmes de groupe différents.
- c - Etre dirigés contre des déterminants antigéniques d'un même antigène, qui est alors en fait une mosaïque de déterminants antigéniques.

DAUSSET et IVANYI ont avancé l'hypothèse que la plupart, sinon tous les antigènes actuellement décelés étaient gouvernés par des gènes d'une seule région chromosomique formant un système très complexe qu'ils ont proposé

d'appeler Hu-1 (Histocompatibilité humaine). Les antigènes de ce ou de ces systèmes seraient eux-mêmes constitués de nombreux déterminants antigéniques.

Le but de notre travail a été d'essayer de produire des immuns-sérums "monospécifiques" c'est à dire réagissant avec un seul déterminant. Deux méthodes ont été abordées :

1.- l'absorption des immuns-sérums sur des leucocytes choisis

2.- l'immunisation de volontaires de constitution génétique la plus proche possible, c'est à dire membres d'une même fratrie.

I.- Essais d'absorption

a.- Dans certains cas, rares il est vrai, les sérums immuns de femmes multipares ou de volontaires immunisés par greffe se montrent "purs" par absorption sur un nombre limité de cellules, les sérums absorbés étant re-testés sur les mêmes variétés de cellules. Cette "pureté" apparente n'étant valable que dans une technique donnée et sur une population donnée.

b.- Dans d'autres cas la même épreuve d'absorption croisée aboutit à la mise en évidence de deux ou de plusieurs anticorps. Encore que la faiblesse des réactions empêche le plus souvent d'isoler nettement un de ces anticorps.

c.- Enfin dans la plupart de cas les réactions observées au cours de l'épreuve d'absorption sont ininterprétables par paradoxales. Les différentes hypothèses avancées pour expliquer cette situation sont :

1.- la faiblesse des anticorps donnant souvent de fausses réactions négatives.

2.- l'existence de cellules capables d'absorber sans être agglutinables ou lysables (ANAP)

3.- la nécessité de l'action cumulatrice de deux ou plusieurs anticorps pour obtenir une réaction sérologique visible.

Les difficultés techniques qui viennent d'être évoquées rendent la fabrication de sérums-tests par absorption extrêmement aléatoire d'autant plus que les quantités d'antigènes disponibles sont très petites. En moyenne on peut absorber 1 ml de sérum titrant $1/32$ sur des leucocytes provenant d'un don

de sang (300 ml). L'absorption ne pourra entrer dans la pratique courante que lorsque l'on disposera d'une quantité importante de cellules parfaitement groupées, par exemple de lignées cellulaires humaines maintenues en culture.

II.- Immunisation entre membres d'une même fratrie

Trois paires de frères ont été immunisés réciproquement. Deux des paires ont reçu des greffes de peau croisées puis des injections intra-derniques de leucocytes provenant du frère. Une paire n'a été immunisée que par des injections de leucocytes.

Quatre immuns-sérums ont été obtenus dont la spécificité est à l'étude. L'un d'eux est déjà connu pour une stricte spécificité anti-3 (4a) telle que les formules leucocytaires comparées des deux frères les laissaient prévoir.

Vu le Président de Thèse

Professeur J. BERNARD

Vu le Doyen de la Faculté

Professeur G. BROUET

Vu et Permis d'imprimer

Le Recteur de l'Académie de Paris

J. ROCHE

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ANDRE R.DREYFUS et BESSIS M.

Iso immunisation anti leucocytaires après transfusions
Anticorps anti-leucocytes et leucopenies

Rev.Fran.E. clin.Biol.2.33.1958

- 2 - ANDRE R.DREYFUS B. et SALMON Ch.

Isoanticorps immuns antileucocytaires après transfusion
Etude de spn activité agglutinante, lysante et opsoni -
sante. Rev Hema. II 390.1956

- 3 - ANDRE R.DREYFUS B. et BESSIS M.

Anticorps antileucocytaires dans un cas de leucémie
lymphoïde chronique.

Rev.Hema 2.50.1954

- 4 - ASHHURST D.E. Bedford D. and COMBS R.R.A.

Examination of human platelets for the A B O, Rh, Tja,
lutheran and lewis systeme of antigens by means of
mixed erythrocyte platelets agglutination.

Vox Sang.I.235.1956

- 5 - ASTER R.H. Cooper H.E. and SINGER D.E.

Simplified complement fixation test for the detection
of platelets antibodies in human serum

K.Lab.clin : Med.63.161 1964

- 6 - BERNARD J.Grabar P.Seligman M. BADILLET M.

Intradermoreaction due a des extraits de leucocytes
normaux et de leucocytes leucémiques chez des sujets
atteints de leucémie aigue.

Bul.Soc.med.Hop.Paris 70.II 69 1954

- 7 - BERROCHE L.Y. 1963

L'étude des anticorps anti-plaquettaires en particulier
par la technique de la fixation du complément .

Thèse Paris.

8 - BESREDKA

la leucotoxine et son action sur les systèmes leucocytaires

Ann.Inst.Pasteur 1900 14 390

9 - BESSIS M. TABUIS J.

Action cytolytique des sérums antileucocytaires et plaquettaires. Etude par cinématographie.

Rev. Hema. 2 127 1954

10- BESSIS M.

Cytologie aspect of immunohematologie and study with phase contrast cinephotomicrographie

Ann.NY.AC.SEC. 59 986 1955

11- BIENN HH.

Recherche sur les injections intraperitoneale chez le chien de sang et de sérum leucotoxique

CR. Soc Biol. 1902 54 1001

12- BODMER W.F. and PAYNE R.

Theoretical consideration of leukocyte grouping using multispecific sera

Histocompatibility testing. Series Hematologica 141
Murksgaard (Copenhagen 1965)

13- BUNTING CH.

The effect of lymphocytotoxins and myelotoxins on the leucocytes of the blood forming and on the blood forming organ.

Univ. Penn Med.bull.1903.16.200.

14- BRENT et MEDAWARD PB.

Tissus transplantation. A new approach of the typing problem.

Brit.med 1963 2 269

- 15- BRITTINGHAM T.E.
Immunologic Studies on leucocytes
Vox.Sang.2 242 1957
- 16- BRUNING J.W., LECUWEN A. van ROOD J. Van
Somes studies concerning the localisation and nature
of leucocytes groupe substance in placental tissus
Proc. 9th Congr.int.soc.
Blood Trans.Mexico 1962 p.569
- 17- BRUNING J.W., A. Van LEEUWEN and J.J. van ROOD 1965
Leucocyte Antigens.Histocompatibility Testing.
Series Haemato II Munsgaard (Copenhagen) 275-284
- 18- BUTLER JT.
A study of the antigens of normal leucocyte
J.Lab.clin.med.65 II0 1960
- 20- CRISTIAN et LEEN J.F.
Some further observation of leucocytotoxine
Boston med. and Sang. 1905 152 397
- 19- CEPPELLINI
Personal communication (Dausset)
- 21- DAUSSET et TANGUN
Hemotype leucocytaire et plaquettaires
Tome 8 supp.1 1965
- 22- DAUSSET J.Yvanyi P. Ivany.D.
Tissus alloantigènes in human identification of a
complex systeme histocompatibilite testing.1945
Serie homat.11 Munkagard Copenhague:51-62
- 23- DAUSSET J.COLOMBANI J.FEINGOLD.N. et RAPAPORT F.
Un système de groupe leucocytaire et ses rapports avec
l'histocompatibilité.
Nelle Rev Franc.d'hema Tome 5 1965 N° I P.17 22
- 24 - DAUSSET J.
Présence d'antigènes A et B dans les leucocytes decelés
d'après les épreuves d'agglutination.
Cr.Soc.Biel.148.1607 Paris 1954

- 25- DAUSSET J. COLOMBANI J.
Homogreffe de peau chez l'homme en rapport avec les iso-
antigènes leucocytaires
Proc. 9th Congr. Europe Soc. hema. Lisbonne 1963
- 26- DAUSSET J.
Immunochematologie des leucocytes
Mod. probl. Paedi 3. 29 - 56
- 27- DAUSSET J.
Iso leuco anticorps
Acta hematologica 20 156 -166 1958
- 28- DAUSSET J.
Les iso antigènes leucocytaires sont des antigènes
d'histocompatibilité.
Pres. med n° 14 707-710 1966
- 29- DAUSSET J. et BERCY H.
Test de neutralisation directe de l'antiglobuline et
inagglutinabilité des leucocytes au cours de leucopenies
idiopathiques
Vox Sanguinis 2 serie nouv. 248 1957
- 30- DAUSSET J.
Techn de recherche d'une leucoagglutinines
Rev. Fr. étude clin. et Biol I. 241 1956
- 31- DAUSSET J. NENNA A.
Leuco aggl. IV -Blood 9.696.1956
- 32- DAUSSET J. Ivanyi P. and FEINGOLD N.
Tissue alloantigen present in human leucocytes
VIIth International Transplantation conference N.Y. 1966
Ann N.Y. Acad. Sci. (to be published)
- 33- DAUSSET J.
Le traitement moderne d' Agranulocytose
Diag. et traitement 1 1947
- 34- DAUSSET J. F.T. RAPAPORT P. IVANYI, J. COLOMBANI et L. LEGRAND
Rôle des antigènes leucoplaquettaires dans l'histocom-
patibilité, mis en évidence grâce à la pré-immunisation.
Nouv. rev. fr. d'Hémat. 5, 6, 883.890 1966

- 35 - DAUSSET J.; RAPAPORT F.T. COLOMBANI J. FEINGOLD F. LEGRAND
et REVIRON J.

Rôle du système erythrocytaire ABO dans l'histocompatibilité humaine.

Presse méd 73 , 40, 2237-2238.1965

- 36 - DAUSSET J.. BENOIT . LEGRAND L. BERROCHE L.Y. MOULLEC J.

Etude familiale des allo antigènes leucoplaquettaires
(sous pr.)

- 37 - DAUSSET J.:

Isoantigènes et iso anticorps anti plaquettes

Proc.7 Congr.Soc.Int.Trans.Sang Rome 1958

Karger Ed.Bâle/New-York

- 38 - DAUSSET J. COLOMBANI J. et OKAKI K.

Leucocytes and platelettes agglutination. In immunological methode

J.P.Ackroyd Ed 539 573 1964

- 39 DAUSSET J.

The leucoagglutination

Transfusion 2 209.215 1962

- 40 - DAUSSET J. TREVENIS H. et BERNARD J.

Les leucoagglutinines, la pancytopenie Chronique idio-
pathique avec le coagglutinines scriques.

Rev.Hema.8.316.1953

- 41 - DAUSSET J.

Présence d'une leucoagglutinine dans le sérum d'un cas
d'agranulocytose chronique.

Cr Soc.Biol.146 153-1541 1952

- 42 - DELAUNAY A. ROBINEAUX R. LEBRUN J.

Contribution à l'étude des congglutinines et antilyssines
Toxicité du sérum humain et du sérum de boeuf pour les
leucocytes de cobayes.

Rev.Imm.1950 14, 4, 262,70

- 43 - DELEZENNE C.

Contribution à l'étude des sérums anti leucocytaires.

Cr.des Scien.1900 131.427

- 44- DUJARRIC de LA RIVIERE et EYQYEM A.
Groupes sanguins chez les animaux
.
- 45- FEINGOLD N.
Le coefficient de corrélation dans l'étude des groupes
leucocytaires(sous presse)
- 46- FLEXNER S.
The pathologie of lymphotoxic and myelotoxic intoxication.
Univ.Penn.med.bull.1902.15 287
- 47- GORER P.A. et GORMAN P.O.
The cytotoxic activity of its antibodies in mice.
Transpla.Bull.1956 8 142
- 48- IVANYI P. and J.DAUSSET.1965
Alloantigenes and antigenic factors of human leucocytes.
A hypothesis.Synposium on tissue typing Strasbourg 1965
Vox Sang.II.1966
- 49- JENSEN K.G.
Leucocytes antibodies in serum of pragnant women
serology and clin.
Vox.Sang 1962 I 454-469
- 50- KABAT et MAYER
Experimental immunochemistry
- 51- LESCHKE E.
Ueber leucocyte nauflorende immunstoffe
Z.immunt.f. 1912 1913 16 627
- 52- LINDSTROM G.A.
Experimental study of myelotoxic sera.
Cr.Acad.Mod.Scan 1927 221
- 53- MENNE F. .
Immunology experimental with platelets of human
blood.
15 Inf.Dis 1922 455-460

54 - NIESCHER P.

Leucopenies chroniques par auto anticorps
Helv.med.Acta 20 423 1953

55 - NIESCHER et FAUCONNET M.

Mise en évidence de différents groupes leucocytaires
chez l'homme.
Schweis.med.Wschr.1954 597

56 - MILGROM F., PALESTER H., VORANICZKO G., DUDZIAK.Z.

Complement fixing leucocytes antibodies
Vox Sang.2 263 1957

57 - BRECY J. et EVELIN J.

Immunisation anti leucocytaire provoquée par des
injections répétées du même sang
Le Sang 549 560

58 - MOESCHIN S. und SCHMID.R.

Investigation of leucocyte agglutination in serum of
compatible and incompatible blood groupe
Acta Hema.II 241 1954

59 - MOLINIER J.

Isoanticorps et iso antigènes de groupes communs aux
leucocytes plaquettes et erythrocytes.
Sang 7 623 1959

60 - PAYNE R., ROLFE M.R.

Foetomaternal leucocyte incompatibility
J.Clin.invest 1958 73 1756-1763

61 - PAYNE R., N. TRIPP, J.WEIGLE, W. BODMER and J. BODMER .1964

A new leucocyte isoantigen System in man.
Cold Spring Harbor Symposion Quantitative Biology 29
285-295

62 - Van ROOD J.J., A.Van LEEUWEN, A.M.J.SCHIPPERS, W.H.VOOYS,
E.FREDERIS H.BALNER & J.G.ERNISSE 1965

Leucocytes groups, the normal lymphocy & Transfer test
and homograf sensitivity.
Histocompatibility testing.SER.Haem.II Munksgaard
Copenhagen :37-50

- 63- Van ROOD J.J. and Van LEEUWEN A. 1965
Defined leucocyte Antigenic groups in man.
Histocompatibility Testing.Nat.Ac.Sc Washington 1963
Pub 1229 p.21
- 64- Van ROOD J., EERNISSE J.C. Van LEEUWEN A.
Leucocytes antibodies in sera from pragnant women
Nature 1958 181 1735-1737
- 65- Van ROOD
Leucocytes Grouping
- 66- SELIGMANN M. GRABAR P., BERNARD J.
Constitution antigènique des leucocytes
Procd.of the VIIth International Congr.of the Intern. Soc of HEMAT. Rome september 7-3 1958
- 67- SELIGMAN M., GRABAR P., BERNARD J.
Leucoprecipitines I. Presence of precipiting antileucocytes antibodies in the serum of patients with leukaemia
Vox sang 4 181 1954
- 68- SHULMAN N.R., V.J.MARDER, M.C.HILLER & E.M.COLLIER 1964
Platelet & leucocyte iso-antigenes and their antibodies:

Serologic; Phisiologic and clinical Studies.
Progress in Hematologie IV,Grune and Stratton
(New York 222-304)
- 69- SHULMAN NR. MARDER V.J., HILLER C. and BUNIN J.J.
Complement fixing iso antibodies antigenes common to platelets and leucocytes.
Tran.Ass.Amer.Physic.75 89 1962
- 70- ASTER R.H., REARSON H.A. HILLER M.C.,
Immunoreaction involving platelets VI. Reaction of maternal antigenes responsible of neomaternal purpura.
Differentiation of a record platelets antigenic system
J.Clin.Invest.1962 4 1059
- 71- SHULMAN, BRENT L.et MEDAWAR P.B.,
Tissue of transplantation, a new approach to the typing problem (Bul med.1963 2 269

- 72- SHULMAN N.R., ASTER R.H., LEITNER A. et HILLER M.C.
A new syndrome of post transfusion immunologic
purpura
J.clin (Invest. 39,1028 (1960)
- 73- STEINBERG & MARTIN
Leukoagglutination of normaleucocytic and leukemia
cell types.
J. IMM 1946 53 137 140
- 74- TERASAKI P.I., MICKEY M.R., VREDEVUE D.L., GUYETTE D.R.
Serotyping for homotransplantation IV.
Grouping and evaluation of lymphotoxic sera
Vox Sang II:350 1965
- 75- G.TROUP, N.RAMSAY, R.FLYNN & R.L.WALFORD
Production of lymphocytotoxic antisera of narrowed
specificity by selective absorption and immunisation.
- 76- WALFORD R.L., GALLAGHER R. and SJAARDA J.R.
Serologic typing of human lymphocytes with immune
serum obtained after homografting
SC.144 868-872 1964
- 77- WALFORD R.L., GALLAGHER R. and TROUP G.
Human lymphocytes typing isologous antisera.
Technical considerations and a preliminary study of
the cytotoxic reaction system
Trans.3 387-401 1965
- 78 = WICHELS et LAMPE
Die gruppenspezifische differenzierung der leucocyten
Klin. Wschr. 1741 1928
- 79 - WIENER A.A. UNGER L.J.
Further observations on the blood factors Rh^A Rh^B Rh^C and Rhⁱ
Transfusion, 2, 230, 233, 1962
- 80 - Cours d'Immunologie générale et de sérologie de l'INSTITUT PASTEUR 1965
A.M. STAUB et M. RAYNAUD

